



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS
PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE
ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) AISLADAS EN
HEMOCULTIVOS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS
CON SEPSIS

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN INFECTOLOGIA
PRESENTA

Dr. JULIO AUGUSTO CORDERO LOBATON

Directoras de Tesis:

Dra. Alejandra Nava Ruiz

M. en C. M. Eugenia Sepúlveda González

Asesora:

Dra. Margarita Nava Frías



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud

Mexico DF

Agosto 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE
BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) AISLADAS EN
HEMOCULTIVOS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS CON SEPSIS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN INFECTOLOGIA

PRESENTA

Dr. JULIO AUGUSTO CORDERO LOBATON

Directoras de Tesis:

Dra.: Alejandra Nava Ruiz

M. en C.: M. Eugenia Sepúlveda González

Asesora:

Dra. Margarita Nava Frías

Jefe del Departamento de Infectología Pediátrica
Hospital Infantil de México "Federico Gómez"

MÉXICO, D. F.

Agosto 2009

*A mis hijas... por darme la oportunidad de ser
un mejor padre, persona y profesional...*

...a la distancia, mi corazón está con ustedes.

Índice

I.	Introducción.....	1
II.	Antecedentes	2
III.	Marco Teórico.....	5
IV.	Justificación.....	20
V.	Pregunta de Investigación.....	21
VI.	Hipótesis.....	21
VII.	Objetivos.....	21
VIII.	Material y métodos,.....	22
IX.	Criterio de Selección.....	22
X.	Variables	23
XI.	Metodología.....	24
XII.	Resultados	25
XIII.	Conclusiones.....	36
XIV.	Bibliografía.....	39

Identificación de enterobacterias productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) aisladas en hemocultivos de pacientes pediátricos con sepsis.

I. INTRODUCCIÓN.-

Los nuevos desafíos que plantea la medicina han hecho que enfermedades que antes tenían mal pronóstico o se consideraban fatales sean ahora, merced a los adelantos médicos, tratables y curables en un alto porcentaje. A la par de estos desafíos y logros médicos, existen nuevos retos y metas en el área de la infectología tales como el manejo del paciente neutropénico febril, de infecciones oportunistas en pacientes con VIH-SIDA, transplantados y otras poblaciones de individuos con algún tipo de co morbilidad asociada, lo cual implica un adecuado manejo del método clínico y técnicas diagnósticas para poder llegar a diagnósticos oportunos y acertados y así ofrecer tratamientos antimicrobianos que logren reducir la morbilidad.

A su vez, todos estos adelantos han condicionado que bacterias y virus respondan de manera rápida y agresiva desarrollando nuevos mecanismos de resistencia y adaptación al medio, dando origen a investigaciones relacionadas a la producción de nuevos antimicrobianos y a caracterización de los mecanismos de resistencia bacteriana.

Es en este entorno que es necesario realizar investigaciones en nuestro medio que proporcionen información del comportamiento de las bacterias frente a los esquemas terapéuticos usados en el Hospital Infantil de México ya que las tasas de susceptibilidad reportadas pueden variar con respecto a otros centros hospitalarios del país y extranjero, condicionando esto uso y abuso de antibióticos, que en muchos casos originan fracasos terapéuticos. De ahí la importancia de contar con datos epidemiológicos locales que permitan desarrollar programas adecuados de prevención de resistencias bacterianas y uso de antibióticos para mantener actualizados los esquemas terapéuticos de acuerdo a los resultados obtenidos, tomando en cuenta el criterio establecido en el cual se recomienda que para elegir de manera empírica el antibiótico adecuado, el porcentaje máximo de resistencia del germen a cubrir sea del $< 20\%$ ^{1,2}.

II. ANTECEDENTES.-

Hoy en día, las infecciones nosocomiales prevalentes son esencialmente causadas por Enterobacterias, siendo el uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro, uno de los factores que ha contribuido con tal situación y que conlleva a la selección de bacterias resistentes incluso a otros fármacos de estructura química diferente. De esta manera es que al comienzo del siglo XXI se han planteado grandes desafíos:

a.- Infecciones en pacientes inmunocomprometidos en los cuales la terapia antibiótica pierde efectividad ya sea por la patología de base *per se* o por los frecuentes eventos de sepsis y/o choque séptico que incrementan la morbimortalidad de estos pacientes.

b.- La aparición de nuevos patógenos y la reaparición de otros ya conocidos con mayor virulencia representa un serio problema ya que las opciones terapéuticas de que se disponen para el manejo de estas patologías son limitadas ya sea por efectos secundarios, toxicidad, falta de experiencia en pacientes pediátricos, etc.

c.- Mecanismos de resistencia bacteriana que condicionan fracasos terapéuticos, incremento de mortalidad y necesidad cada vez creciente de nuevos antibióticos de menor disponibilidad y mayor costo económico que a su vez incrementan estancia hospitalaria, uso de servicios y recursos.

Estos tres puntos tienen en común el desarrollo de resistencias bacterianas y dentro de estas la producción de β -lactamasas que constituye el principal mecanismo de resistencia de las enterobacterias a los antibióticos betalactámicos que representan al grupo de antibióticos de uso más extendido y frecuente en nuestro medio. En los últimos 20 años, se han desarrollado nuevos antibióticos betalactámicos, diseñados específicamente para ser resistentes a la acción hidrolítica de las β -lactamasas. Sin embargo, con cada nueva clase de antibiótico que se usa para tratar a los pacientes, emergen nuevas β -lactamasas que causan resistencia.

No es de sorprender que rápidamente se generara resistencia a antibióticos betalactámicos de amplio espectro debido a β -lactamasas; la primera descripción de esas enzimas capaces de hidrolizar los nuevos antibióticos se encontró en una cepa de *Klebsiella ozaenae* y, debido a su amplio espectro de actividad, se le denominó β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) ³.

Las β -lactamasas siguen siendo el principal mecanismo de la resistencia a los antibióticos β -lactámicos entre bacterias gramnegativas. En los últimos años se ha producido un aumento en la identificación y caracterización de las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE);, así como de su incidencia y prevalencia como causantes de resistencia a las oximino-cefalosporinas y aztreonam.

La mayoría de las BLEE derivan de β -lactamasas de amplio espectro- TEM-1 y SHV-1. Hay también nuevas familias de BLEE, incluidas la CTX-M y OXA-enzimas⁴.

Actualmente, se han descrito más de 150 BLEE en diferentes géneros de *Enterobacteriaceae*, lo que genera aparición de resistencia a cefalosporinas de amplio espectro ^{5, 6}.

Klebsiella pneumoniae y *Escherichia coli* son patógenos asociados a infecciones hospitalarias, especialmente en pacientes de la unidad de cuidados intensivos. En estas bacterias, las BLEE son las responsables de la resistencia a aztreonam y cefalosporinas de tercera generación, como cefotaxima, ceftriaxona ceftazidima ⁶.

La prevalencia de la producción de las BLEE varía geográficamente y asociado a esto tenemos el incremento importante de la sobrevida en pacientes con patologías crónicas, neoplásica, inmunocomprometidos, y recién nacidos prematuros, por mencionar algunos, en éstos, la administración indiscriminada de antibióticos, principalmente cefalosporinas condiciona una presión antibiótica importante sobre la microbiota que a la larga ocasiona cepas resistentes y el consecuente fracaso terapéutico.

Existen factores de riesgo específicos para adquirir una cepa productora de BLEE, como una estadía prolongada en el hospital, la gravedad de la enfermedad, el tiempo de permanencia en la unidad de cuidados intensivos, la intubación y la respiración mecánica asistida, el uso de catéteres urinarios o arteriales y la exposición previa a los antibióticos de amplio espectro. Muchos de los pacientes infectados con cepas productoras de BLEE se encuentran en la unidad de cuidados intensivos aunque la infección también puede ocurrir en salas de cirugía y otras especialidades ⁴.

Reportes de prevalencias del Hospital Pediátrico Universitario de Seul-Corea informan que en los casos de niños con bacteriemia causada por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, la prevalencia de producción de BLEE fue de 17,9% en las cepas de *E. coli* y 52,9% en *K. pneumoniae*. La β -lactamasa más común fue BLEE SHV-2a y TEM-52 ⁷.

En el contexto del incremento global de la vigilancia epidemiológica sobre la resistencia bacteriana, según los estudios realizados destacan ⁸:

El proyecto **ALEXANDER** dirigido a la vigilancia de la resistencia en patología infecciosa de vías respiratorias bajas en la comunidad.

El estudio **MYSTIC** dirigido a la monitorización de las resistencias en las infecciones moderadas a graves.

El estudio **ICARE** en el cual se demuestra la importancia de las guías de uso de antimicrobianos y de la política de antibióticos intrahospitalaria y como pueden tener un efecto reductor en el desarrollo local de resistencias.

El estudio **SENTRY** Antimicrobial Surveillance Program, referido a la evolución de la resistencia en bacteriemias y los mecanismos genéticos de transmisión y selección de mutantes ⁹.

Desde 1999 hasta el 2001 el programa Mexicano de vigilancia de resistencias bacterianas ha recolectado datos de 15 laboratorios de microbiología clínica de

diferentes hospitales del país, y ha detectado una resistencia de 49% para aislamientos nosocomiales de *Klebsiella pneumoniae*.

En éste último estudio, se reporta para México una prevalencia de fenotipo BLEE en aislamientos de Gram negativos de 37.3% para *Escherichia coli* y 54.5% para *Klebsiella spp.*, todos susceptibles a cefepima ¹⁰. Recientemente se ha reportado en México una resistencia asociada a BLEE del 51% para cefotaxima y ceftazidima y un 6% para cefepima; datos afines a los reportados por el programa SENTRY.⁸

diferentes hospitales del país, y ha detectado una resistencia de 49% para aislamientos nosocomiales de *Klebsiella pneumoniae*.

En éste último estudio, se reporta para México una prevalencia de fenotipo BLEE en aislamientos de Gram negativos de 37.3% para *Escherichia coli* y 54.5% para *Klebsiella spp.*, todos susceptibles a cefepima¹⁰. Recientemente se ha reportado en México una resistencia asociada a BLEE del 51% para cefotaxima y ceftazidima y un 6% para cefepima; datos afines a los reportados por el programa SENTRY.⁸

III. MARCO TEÓRICO.-

Familia *Enterobacteriaceae*

La familia *Enterobacteriaceae* denominada así por Rahn en 1937, está formada por un conjunto de bacilos Gram negativos, heterogéneos en cuanto a su hábitat y capacidad patógena, pero incluidos en ella por la semejanza en sus caracteres estructurales y fisiológicos y su homología genética¹¹.

En la actualidad conforman un grupo con más de 157 especies incluidas en más de 30 géneros y 11 grupos con las características de la familia¹². Sólo unas 40 de las 157 especies descritas son patógenas para el hombre o se ha aislado de muestras clínicas como comensales, las otras 117 especies no se han aislado de muestras humanas¹¹.

En la definición clásica de una *Enterobacteriaceae* se usan siete criterios básicos, adicional a la aparición de nuevos métodos taxonómicos para incluir a ciertos géneros que no cumplen con todos los siguientes criterios, pero que forman parte de esta familia:

- Son bacterias gramnegativas, la mayoría bacilos, otros cocobacilos y algunos pleomórficos.
- No son exigentes, son de fácil cultivo.

- Son oxidasa negativo (excepto *Plesiomonas*, que es oxidasa positivo), es decir, carecen de la enzima citocromo oxidasa.
- Son capaces de reducir nitrato en nitrito.
- Son anaeróbicos facultativos.
- Son fermentadores de carbohidratos en condiciones anaeróbicas con o sin la producción de gas (en especial glucosa y lactosa), y oxidadores de una amplia gama de sustratos en condiciones aeróbicas.
- Muchos géneros tienen un flagelo que sirve para desplazarse, aunque algunos géneros no son móviles.

Adicional a ello, las *Enterobacteriaceae* no forman esporas, algunas producen toxinas y pueden ser encapsuladas y son organismos catalasa positivos. Son quimioheterótrofos, y necesitan para su crecimiento compuestos simples de carbono y nitrógeno, generalmente sólo con D-glucosa, aunque algunas requieren aminoácidos y vitaminas. La temperatura óptima de crecimiento es de entre 22°C y 37°C.¹³

Las diferencias entre los nombres de los diversos géneros provienen de criterios más precisos, como la fermentación de los diferentes azúcares, la producción o no de azufre, la presencia de enzimas metabólicas (β -galactosidasa, desaminasas, descarboxilasas), etc. Los serotipos de importancia médica y sanitaria pueden distinguirse entre sí por la presencia o ausencia de antígenos en su constitución celular, tales como en el lipopolisacárido (antígeno O), el antígeno flagelar (antígeno H) o el antígeno capsular (antígeno K) .

Las infecciones oportunistas pueden darse siempre que existan factores predisponentes locales: todos aquellos que rompen las barreras físicas constituidas por la piel y las mucosas como las heridas, quemaduras, catéteres o las fisiológicas del árbol respiratorio (intubación) de la vía urinaria (sondas) o de la vía genital (dispositivos intrauterinos); así como factores generales: disminución

de las defensas globales inespecíficas, principalmente fagocitosis y de la respuesta inmune del huésped, que puede estar disminuida por una enfermedad de base.¹⁴

Escherichia coli es el principal habitante anaerobio facultativo del intestino grueso y es único entre los microorganismos que integran la flora normal por cuanto también es el microorganismo aislado con mayor frecuencia como agente causal de infecciones de las vías urinarias, de heridas, de neumonía, de meningitis y de septicemia, tanto en las infecciones comunitarias como en las adquiridas en el hospital.

Forma parte de la familia *Enterobacteriaceae* está integrada por bacilos Gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos, capaces de crecer en agar MacConkey y en medios simples con o sin agregado de NaCl, fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos, catalasa positivos, oxidasa negativos, reductores de nitratos a nitritos, y poseedores de una proporción G+C de 39 a 59% en su DNA.

Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales. En conjunto, la importancia de las enterobacterias en patología humana puede cuantificarse constatando que constituyen el 50% aproximadamente de todos los aislamientos clínicamente significativos en los laboratorios microbiológicos, y hasta el 80% de todos los bacilos Gram negativos identificados.

E. coli es la especie tipo del género *Escherichia*. Incluye gérmenes generalmente móviles, que producen ácido y gas a partir de la glucosa, la arabinosa, y habitualmente de la lactosa y otros azúcares. Producen reacción positiva de rojo de metilo, y negativa de Vogues-Proskauer. Son inhibidos por KCN e incapaces de crecer en medio con citrato como única fuente de carbono y energía, pero sí en caldo acetato. Son H₂S, ureasa y fenilalanina negativos, pero en general son indol positivos y decarboxilan la lisina. Se clasifican en más de 170 serogrupos O según

las características antigénicas de su LPS, y en serotipos por la combinación de antígenos O y H flagelares. Otros antígenos presentes en distintas cepas (capsulares, fimbriales y otros) han sido empleados para su clasificación o identificación.

E. coli coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño, y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio. *E. coli* puede ser causa de enfermedad endógena en pacientes debilitados o en situación de alteración de la pared intestinal (peritonitis, sepsis, etc.)¹⁵.

La especie del género *Klebsiella* que se aísla con mayor frecuencia es *K. pneumoniae*. Se encuentra en las heces de los individuos sanos (del 5 al 10%) y es con frecuencia un invasor secundario del aparato respiratorio de enfermos con enfermedad pulmonar crónica. Como otras *Enterobacteriaceae* oportunistas, *K. pneumoniae* puede ocasionar infecciones en aproximadamente el 3% de todas las neumonías bacterianas agudas y es el segundo patógeno más común del tracto urinario. También pueden causar infecciones de heridas. Es la segunda especie después tras *E. coli* causante de bacteriemia por Gram negativos. Forman una cápsula y por esta razón producen colonias grandes y húmedas, frecuentemente muy mucosas. *K. oxytoca* se parece a *K. pneumoniae* y desde el punto de vista clínico pueden considerarse semejantes¹⁵.

Antibióticos β -lactámicos: Clasificación y estructura química

La presencia de un anillo betalactámico define químicamente a esta familia de antibióticos, de la que se han originado diversos grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, monobactamas e inhibidores de las β -lactamasas.¹⁶

Las penicilinas son un grupo de antibióticos que contienen un anillo betalactámico y una cadena lateral, que varía de unas penicilinas a otras en la posición 6 del anillo betalactámico y que es la que define sus propiedades.

Las cefalosporinas son fármacos estructuralmente similares a las penicilinas, cuya estructura básica está constituida por el núcleo cefem, que consiste en la fusión de un anillo dihidrotiacínico (en lugar del anillo tiazolidínico característico de las penicilinas) y un anillo betalactámico. La introducción de modificaciones en las cadenas laterales origina las diversas cefalosporinas.

En el momento actual únicamente se emplean en clínica inhibidores de las β -lactamasas de estructura química betalactámica. El ácido clavulánico tiene un núcleo similar al ácido penicilánico de las penicilinas con la sustitución del átomo de azufre en posición 3 por un átomo de oxígeno (que incrementa la reactividad de la molécula y proporciona una afinidad mayor por las β -lactamasas), y la falta de la cadena lateral acilamino en posición 6. El sulbactam es una sulfona semisintética del ácido penicilánico. El tazobactam se diferencia del sulbactam por la presencia de un grupo triazol en posición 3.

La estructura básica de las carbapenemas consiste en un anillo betalactámico fusionado a uno pirrolidínico compartiendo un nitrógeno. Estas modificaciones y las cadenas laterales, así como la posición espacial de éstas, condicionan la mayor afinidad por su diana o blanco, las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), un incremento de la potencia, del espectro antibacteriano y de la resistencia a las β -lactamasas, permitiendo que los β -lactámicos posean un más amplio espectro y actividad.

Los monobactámicos son derivados del ácido 3-aminomonobactámico (3-AMA). Tienen una estructura betalactámica sencilla con una estructura monocíclica en la que el anillo betalactámico no está fusionado a otro secundario.¹⁷

Los β -lactámicos son antibióticos de actividad bactericida lenta, relativamente independiente de la concentración plasmática alcanzada, siempre que ésta exceda la concentración inhibitoria mínima (CIM) del agente causal. La actividad bactericida y probablemente la eficacia clínica se relacionan mejor con el tiempo durante el cual dicha concentración excede la CIM ($T > CIM$). Para la mayoría de infecciones se considera adecuado que el tiempo que supera la CIM sea como mínimo del 40% del

intervalo entre dosis; pero en pacientes neutropénicos o con meningitis es probable que sea mejor estar todo el tiempo por encima de la CIM. El efecto postantibiótico (EPA) consiste en la acción residual del antibiótico sobre la bacteria después de descender las concentraciones terapéuticas en la sangre y los tejidos por debajo de la CIM. En el caso de los antibióticos β -lactámicos, el EPA es de corta duración, con la excepción de los carbapenémicos, que presentan un EPA apreciable tanto sobre Gram positivos como sobre Gram negativos. Estos parámetros indican que alargar los intervalos entre dosis puede llevar a fracasos terapéuticos ^{16, 17}.

Mecanismo de acción.-

Los antibióticos β -lactámicos son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen además un efecto autolítico. La destrucción de la pared celular bacteriana se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de la síntesis del péptidoglicano.

En las bacterias Gram positivas, la pared celular es gruesa y su componente principal es dicha proteína. Las bacterias Gram negativas tienen una pared más fina y compleja que consta de una membrana externa formada por lípidos y proteínas y de una delgada capa interna de péptidoglicano.

El péptidoglicano está constituido por largas cadenas de glúcidos (glucano), formadas por la repetición de moléculas de ácido *N*-acetilmurámico y *N*-acetilglucosamina. El ácido murámico fija cadenas de tetrapéptidos (péptido-) que se unen entre sí para formar una malla, bien directamente (Gram negativos) o mediante un pentapéptido de glicina (Gram positivos). Los β -lactámicos inhiben precisamente esta unión o transpeptidación, última etapa de la síntesis de la pared celular. De este modo, la pared queda debilitada y puede romperse por la presión osmótica intracelular. Para que actúen los β -lactámicos es necesario que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que es cuando se sintetiza la pared celular.

Los componentes del péptidoglicano se sintetizan en el citoplasma y son transportados a través de la membrana citoplasmática al espacio que existe entre

ésta y la pared celular. A este nivel existen unas proteínas con actividad enzimática (transpeptidasas y carboxipeptidasas), que son las encargadas de formar los tetrapéptidos unidos. Estas enzimas fijan a las penicilinas y otros β -lactámicos, por lo que se llaman PBP (por sus siglas en inglés, Penicillin-binding proteins). La función de las PBP es alargar, dar forma y dividir la bacteria. Los anillos de los β -lactámicos poseen una estructura similar a los dos últimos aminoácidos del pentapéptido (D-alanina-D-alanina) y eso permite una unión covalente en el sitio activo de la transpeptidasa. También pueden inhibir a las carboxipeptidasas y algunas endopeptidasas.

Los β -lactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el péptidoglicano. La lisis se produce con concentraciones que superan entre 4 y 10 veces la CIM de un determinado microorganismo. Las bacterias que carecen de autolisina son inhibidas pero no destruidas, por lo que se dice que son tolerantes. Se define el fenómeno de tolerancia como la necesidad de una concentración al menos 32 veces mayor a la CIM para que un antimicrobiano destruya una cepa bacteriana.

La inhibición de las reacciones de biosíntesis por antibióticos β -lactámicos está acompañada por cambios morfológicos característicos. Las diferencias morfológicas observadas, se deben a la PBP que resulta afectada. Cuando las bacterias se desarrollan en presencia de penicilina se acumulan intermediarios de la síntesis de la pared celular, nucleótidos de uridina sin uniones cruzadas, y las nuevas paredes no se pueden formar y la bacteria muere por efecto osmótico o digerida por enzimas autolíticas, que se activan como consecuencia del bloqueo de la función de una o varias PBP ^{16, 17}.

Mecanismos de resistencia

Las bacterias pueden desarrollar resistencia a los β -lactámicos por varios mecanismos, que en ocasiones se asocian. El control genético de estos mecanismos

puede ser cromosómico, plasmídico o por transposones. La resistencia cromosómica aparece por mutación, mientras que los plásmidos y los transposones, elementos genéticos móviles donde se transportan los genes de resistencia, pueden ser autotransferibles entre bacterias

Los mecanismos implicados en la resistencia bacteriana son los siguientes:

1. *Alteraciones de la permeabilidad.* La presencia de membrana externa en los bacilos Gram negativos dificulta la penetración de sustancias hidrofílicas, como los β -lactámicos, que necesitan utilizar los poros proteicos (porinas) para tal fin. La resistencia es secundaria a alteraciones en dichas porinas.

2. *Modificación de las dianas.* Los β -lactámicos deben unirse a las PBP para ejercer su efecto bactericida. Cambios a nivel de las PBP implican una pérdida de afinidad de los β -lactámicos por ellas, con la consiguiente disminución de su actividad. Este mecanismo afecta fundamentalmente a cocos Gram positivos.

3. *Producción de enzimas.* Se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico. Son ejemplos de esta la producción de enzima β -lactamasa, β -lactamasa de amplio espectro, eritromicina estereasa y enzimas modificadoras de aminoglucósidos, cloramfenicol, lincosamidas y estreptograminas. Otra vía para inactivación del antibiótico es la “modificación enzimática” del mismo.

Las β -lactamasas (penicilinasas y cefalosporinasas) son enzimas producidas por la célula bacteriana, capaces de romper por hidrólisis el anillo betalactámico, impidiendo la acción del antibiótico. Las β -lactamasas hidrolizan el anillo betalactámico antes que el antibiótico llegue al punto de unión con las PBP (proteínas fijadoras de penicilina). Aunque todas las β -lactamasas catalizan la misma reacción, se han aislado y caracterizado numerosos tipos de enzimas que se clasifican en forma diversa de acuerdo, por ejemplo, a su secuencia de aminoácidos, peso molecular o especificidad del sustrato. La localización del gen que codifica la β -lactamasa es variable, pudiendo localizarse en el cromosoma o estar codificada por plásmidos. Las β -lactamasas cromosómicas son universales en una bacteria

específica mientras que la presencia de ellas codificadas por plásmidos (moléculas de ADN extracromosómico circular o lineal que se replican y transcriben independientes del ADN cromosómico) es variable y transferible entre las diversas especies bacterianas ¹⁸.

Tipos de resistencia

Se conoce como *resistencia natural* a los mecanismos permanentes determinados genéticamente, no correlacionables con el incremento de dosis del antibiótico. Un ejemplo de esto es la resistencia de la *Pseudomonas aeruginosa* a las bencilpenicilinas y al trimetoprin sulfametoxazol; bacilos Gram negativos aeróbicos a clindamicina.

La *resistencia adquirida* aparece por cambios puntuales en el DNA (mutación) o por la adquisición de éste (plásmidos, trasposones, integrones).

En el primero se dan casos tales como la transformación de una β -lactamasa en una β -lactamasa de espectro extendido o como en el caso de mutaciones de los genes que codifican las porinas con el consecuente bloqueo del ingreso del antibiótico al interior del microorganismo.

Existen otras denominaciones de resistencia como son:

- Resistencia relativa o intermedia: ocurre un incremento gradual de la MIC (concentración inhibitoria mínima) a través del tiempo. Para obtener un efecto terapéutico es necesario alcanzar niveles séricos y tisulares adecuados. La susceptibilidad o resistencia del germen es en este caso dependiente de concentración.
- Resistencia absoluta: sucede un incremento súbito en la MIC de un cultivo durante o después de la terapia. Es inefectivo el incremento de la dosis clínica usual. Ejemplo de ello es la *Pseudomonas spp.* resistente a gentamicina y el *Streptococcus pneumoniae* altamente resistente a penicilina y uso de levofloxacina.

- Pseudoresistencia: ocurre una resistencia *in vitro* pero una gran efectividad *in vivo*.

Se denomina *tolerancia antibiótica* al fenómeno en el cual la diferencia entre la MBC (concentración bactericida mínima) y la MIC es muy grande lo cual ocurre con relaciones MBC/MIC mayores de 8 lo que permite la persistencia del microorganismo.

Multiresistencia: Es la resistencia que presenta una bacteria a tres o mas antibióticos de distinto género considerados de primera línea en el tratamiento ^{18, 19}.

β-lactamasas

La resistencia bacteriana es un problema de salud pública que afecta todo tipo de instituciones y a la comunidad en general. La resistencia bacteriana es un problema importante en las unidades de cuidado intensivo, afectando también las unidades pediátricas y las neonatales. Las Enterobacteriáceas son en nuestro medio la principal causa de infección nosocomial, siendo la *Klebsiella pneumoniae* y la *Escherichia coli*, las bacterias principales causantes de infecciones nosocomiales. Se describirá el fenómeno de las β-lactamasas, BLEE (Betalactamasas de espectro extendido) y se analizan sus factores productores así como los mecanismos para su control.

La continua aparición de nuevas betalactamasas ha creado problemas en su clasificación y nomenclatura. En un principio, su nombre hacía referencia a aspectos tan diversos como: el sustrato sobre el que actúa (CARB, OXA), sus propiedades bioquímicas (SHV), la bacteria que la produjo por primera vez (PSE descrita por primera vez en *P. aeruginosa*), el paciente del que procedía la muestra (TEM, ROB) o el hospital donde estaba ingresado el paciente (MIR, RHH) y el estado al que pertenecía (OHIO), no pudiendo faltar las iniciales de los autores que las describieron por primera vez (HMS). Hoy se conocen más de 300 enzimas diferentes lo que impone una nomenclatura mucho más lógica que asigna un número a cada enzima.

La clasificación propuesta por Jack y Richmond en 1970 y posteriormente ampliada por Richmond y Stykes en 1973, fue la que se utilizó hasta que Bush en el año 1989 propusiera una clasificación basada en la actividad enzimática o afinidad de los enzimas por diferentes sustratos y su sensibilidad a la acción inhibitoria por el ácido clavulánico. Esta clasificación fue revisada en 1995 y es la que se utiliza en la actualidad. Por otro lado Ambler (1980) propuso una clasificación en función de los mecanismos de interacción enzima-sustrato y la secuencia de aminoácidos de las b-lactamasas en la que distinguen cuatro clases de enzimas designados como A, B, C y D.

A principios de los años 80, aparecieron las primeras b-lactamasas plasmídicas sintetizadas por microorganismos Gram negativos con actividad sobre cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima). Aunque en un principio se encontraron únicamente en especies muy concretas (*Klebsiella pneumoniae* y *Serratia marcescens*) localizadas en un ámbito geográfico limitado, muy pronto se extendieron por toda Europa, EEUU y el resto de países y cada vez son más los microorganismos en las que se han descrito algún tipo de BLEE (*Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter*, o *Serratia* entre otros).

Las BLEE se diferencian de las demás b-lactamasas ya que su espectro incluye las amino y ureidopenicilinas, penicilinas de segunda y tercera generación y monobactamas; las cefamicinas (cefoxitina y cefotetan) así como los carbapenemes (imipenem y meropenem) continúan siendo activos frente a los microorganismos productores de BLEE. Estas enzimas son inhibidas por el ácido clavulánico y son resistentes al Aztreonam.

La mayoría de estas betalactamasas se han localizado en plásmidos conjugativos lo que predice el modo de adquisición de las mismas a partir de otras bacterias resistentes. Estudios realizados *in vitro* han probado cómo la flora normal del intestino y más concretamente *E. coli*, puede actuar como reservorio de genes de

resistencia y actuar como un factor de diseminación de genes entre los distintos patógenos intestinales ²⁰.

Esta familia de enzimas, en continuo crecimiento, se reconoce en función de sus características funcionales y genóticas, mediante la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros (21) y su correlación con la clasificación molecular de Ambler. Las distintas BLEE confieren un grado de resistencia muy variable. La intensidad de hidrólisis de un determinado antibiótico difiere según las cepas consideradas, pudiendo incluso no tener efecto fenotípicamente detectable en algunos casos en los que únicamente tiene lugar un aumento de la concentración mínima inhibitoria (CMI), pero permaneciendo en el intervalo de sensibilidad.

Las BLEE “clásicas” derivan de las β -lactamasas de amplio espectro, pertenecientes al grupo 2b (TEM-1, TEM-2 y SHV-1). Estas β -lactamasas 2b poseen actividad penicilinasas y son, en su mayoría y *a priori*, inhibidas por el ácido clavulánico. Las mutaciones en el centro activo de estas enzimas 2b, han determinado la aparición de estas otras β -lactamasas BLEE, capaces de hidrolizar también a las cefalosporinas de tercera generación y a los monobactámicos. Las BLEE, por tanto, se clasifican dentro de ese gran grupo 2b, constituyendo el subgrupo 2be (clase molecular A), si bien algunas de ellas se clasifican en grupos distintos al 2be (ej. ciertas oxacilinasas del grupo 2d, clase molecular D). Hasta la fecha se han descrito más de cien variantes distintas de BLEE, derivadas de las β -lactamasas TEM-1 o TEM-2 y más de cincuenta de las derivadas de SHV-1.

Existen otros tipos de β -lactamasas BLEE. En 1989 se describieron las cefotaximasas o CTX-M-asas. Estas BLEE, que derivan originalmente de las β -lactamasas cromosómicas de distintas especies del género *Kluyvera*, pertenecientes a la clase molecular A, se caracterizan por conferir resistencia de alto nivel a cefuroxima, cefotaxima y cefepima, incrementando en mucha menor medida las CMI de la ceftazidima. Se encuentran fundamentalmente en cepas de *Salmonella*

enterica serovar *thyphimurium* y *E. coli*, en otras enterobacterias como *K. pneumoniae* y *Proteus mirabilis*, y en otros Gram negativos como *A. baumannii*, *A. hydrophila* y *Vibrio cholerae*. Su diseminación creciente es un hecho preocupante.

Las BLEE de tipo OXA pertenecen a la clase molecular D y al grupo funcional 2d, confieren resistencia a ampicilina, cefalotina y sobre todo a cloxacilina y son pobremente inhibidas por el ácido clavulánico²².

Existen otras BLEE, de momento poco frecuentes, que no se relacionan claramente con las familias de β -lactamasas establecidas hasta ahora. Por ejemplo, las de tipo PER, la VEB-1, la CME-1, la SFO-1, la TLA-1, las de tipo GES/IBC (GES-1, GES-2, IBC-1), caracterizadas por hidrolizar a la ceftazidima de forma más eficiente que a otros β -lactámicos.

El problema epidemiológico de las BLEE es de extraordinaria magnitud. A diferencia de las β -lactamasas cromosómicas, la resistencia de las β -lactamasas plasmídicas es transferible.

El que se encuentren codificadas en plásmidos conjugativos, posibilita la diseminación de este mecanismo de resistencia no sólo entre distintas cepas de la misma especie sino también entre diferentes especies bacterianas.

Además, las BLEE frecuentemente se incluyen en transposones o integrones, lo cual determina su asociación con otros determinantes genéticos de resistencia transferibles, como los que conllevan resistencia a los aminoglucósidos o al cotrimoxazol.

Tabla 1

Distribución, clasificación y expresión de beta lactamasas Bush, Jacoby y Medeiros (1995)

GRUPO	Sustrato preferido	Inhibidas por ac.clavulánico	Enzimas representativas	CLASE Ambler
1	Cefalosporinas	No	AmpC, MOX-1	C
2.a	Penicilinas	Si	(A,B,C,D) <i>S.aureus</i>	A
2.b	Penicilinas, cefalosporinas 1ª generación	Si	TEM-1, TEM-2, SHV-1	
2.b.e	Penicilinas, cefalosporinas 1ª y 3ª generación, monobactamas	Si	TEM-3-29,43-44, SHV 1-10, K-1	
2.b.r	Penicilinas, inhibidores de betalactamasas	Si/No	TEM 30-41	
2.c	Penicilinas, carbenicilina	Si	PSE-1, PSE-3, PSE-4	
2.d	Penicilinas, cloxacilina	Si/No	OXA-1-10 OXA 11-19	D
2.d.e	Penicilinas, cloxacilina, cefalosporinas 1ª-3ª generación	Si/No		
2.e	Cefalosporinas 1ª-3ª generación	Si	Cefuroximasa	A
2.f	Cefalosporinas 1ª-3ª generación, penicilinas, carbapenemes	Si	NMC-A, Sme-1	
3	Cefalosporinas 1ª-3ª generación, penicilinas, carbapenemes	No	L1,CcrA,IMP-1	B
4	Penicilinas	No	SAR-2	No Definida

Bush K., Jacoby G., Medeiros A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-1233.

Métodos de detección de BLEE

En el año 1998, el Comité Nacional para la Normatización de Laboratorios Clínicos (NCCLS) recomendaba el método de difusión y su aplicación al estudio de sinergia entre cefalosporinas de tercera generación y Amoxicilina clavulánico que consiste en efectuar una prueba de susceptibilidad a cefalosporinas de tercera generación colocando discos conteniendo estos antimicrobianos y un disco con amoxicilina-clavulánico (AC) conteniendo 10 ug de inhibidor, a una distancia de 20 mm. Si la cepa ensayada resulta ser productora de una BLEE, se produce incremento del halo de inhibición en la zona de interconexión entre la cefalosporina y el AC.

En ocasiones puede ser un tanto difícil visualizar este efecto sinérgico. En aquellos casos en los que se observa resistencia a una cefalosporina de tercera generación y la prueba de sinergia resulta ser negativa, puede encontrarse presente una β -lactamasa del tipo IRT (inhibitor-resistant enzymes) o, en su defecto, la cepa bacteriana ensayada puede poseer otro mecanismo de resistencia, por ejemplo, impermeabilidad.

Esta prueba requiere del uso de ampicilina (10 μ g), cefradina (30 μ g) o cefazolina (30 μ g), cefotaxima (30 μ g), ceftazidima (30 μ g), Amoxicilina-clavulánico (10 μ g). El disco de amoxicilina clavulánico debe colocarse en tal forma que mantenga una distancia de 20 mm con los otros discos con el objeto de visualizar zonas de sinergia antibiótica entre ellos. Posteriormente, en el año 2000, NCCLS ha recomendado el método del doble disco, como técnica estandarizada y más reproducible.

Sin embargo, este método ha sido estandarizado sólo para *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*. Se realiza como el método convencional de difusión en agar, en placas de agar Mueller-Hinton, con un inóculo Mac Farland 0,5 y ensayando 4 discos: ceftazidima (CAZ), ceftazidima más ácido clavulánico, cefotaxima (CTX) y cefotaxima más ácido clavulánico. Se incuba normalmente en atmósfera normal durante 16 a 18 hrs a 37°C. Se miden los halos de inhibición en forma convencional.

El aumento del halo en más de 5 mm con los discos conteniendo la mezcla de cefalosporina y AC en relación al disco de cefalosporina sola, para las dos o al menos uno de las dos cefalosporinas (CAZ o CTX), se considera confirmatorio para la presencia de BLEE.

El aumento del halo en más de 5 mm con los discos conteniendo la mezcla de cefalosporina y AC en relación al disco de cefalosporina sola, para las dos o al menos uno de las dos cefalosporinas (CAZ o CTX), se considera confirmatorio para la presencia de BLEE.

IV. JUSTIFICACION.-

Desde la aparición de microorganismos resistentes a antibióticos, se han promovido programas y acciones encaminadas a mejorar el uso y la prescripción de antimicrobianos con el fin de frenar el aumento de la prevalencia de resistencia bacteriana.

En el manejo de patologías pediátricas crónicas asociadas a inmunocompromiso, se debe tomar en cuenta que las infecciones nosocomiales incrementan la morbimortalidad de este grupo de pacientes. De los principales agentes aislados en éstas infecciones destacan las Enterobacterias, entre ellas las más comunes son *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, bacterias que aunado a su importancia clínica destaca su gran variedad de mecanismos de resistencia, de éstos el más fácilmente adquirido es la producción de BLEE.

La terapéutica antibiótica para este tipo de padecimientos se establece de acuerdo a las guías recomendadas nacional e internacionalmente de acuerdo a los patrones de sensibilidad y mecanismos de resistencia identificados para cada microorganismo periódicamente asociado a los reportes emitidos por cada centro hospitalario.

Existe una relación directa entre el aumento de resistencias y el consumo de antibióticos ya que el uso excesivo e inadecuado favorece la selección y propagación de cepas resistentes que se traduce en un aumento de fracasos terapéuticos. Una de las acciones recomendadas en atención primaria es la difusión periódica de los datos locales de resistencia de los gérmenes aislados con más frecuencia en el medio extrahospitalario.

En el Hospital Infantil de México, en estudios previos se han realizado esfuerzos parciales para establecer la frecuencia de cepas de Enterobacterias productoras de BLEE en pacientes oncológicos con neutropenia y fiebre; sin embargo se carece de información global que permita establecer la proporción de cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* que muestren este mecanismo de resistencia aisladas en otros grupos de pacientes y que con ello permitan la revisión, actualización y optimización de uso de antimicrobianos de primera línea en nuestro medio.

En el Hospital Infantil de México, en estudios previos se han realizado esfuerzos parciales para establecer la frecuencia de cepas de Enterobacterias productoras de BLEE en pacientes oncológicos con neutropenia y fiebre; sin embargo se carece de información global que permita establecer la proporción de cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* que muestren este mecanismo de resistencia aisladas en otros grupos de pacientes y que con ello permitan la revisión, actualización y optimización de uso de antimicrobianos de primera línea en nuestro medio.

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.-

Cuál es la proporción de cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE aisladas en hemocultivos de pacientes con sepsis en el Hospital Infantil de México?

V. HIPÓTESIS.-

Siendo *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, los principales patógenos aislados en infecciones sistémicas. Podemos suponer que uno de los principales mecanismos de resistencia que presentan es debido a la producción de β -Lactamasas de Espectro Extendido.

VI. OBJETIVOS.-

General

Identificar cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* productoras de BLEE en pacientes pediátricos con sepsis internados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez durante el periodo del 2006 al 2008.

Específicos.

1. Conocer la frecuencia de producción de β -lactamasas de espectro extendido por *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*.

2. Identificar la frecuencia de cepas multiresistentes de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*.
3. Describir el perfil de sensibilidad a piperacilina/tazobactam, cefotaxima, cefepima, amikacina, imipenem y ciprofloxacino de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*.

VII. METODOLOGIA DE INVESTIGACION.-

Tipo de Estudio

Estudio descriptivo, observacional, retrospectivo, transversal

Población de estudio

Cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* aisladas en hemocultivos de pacientes pediátricos con infecciones sistémicas, durante el periodo 2006 al 2008.

Unidad de análisis

Cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE aisladas en hemocultivos de pacientes pediátricos con sepsis en el Hospital Infantil de México Federico Gómez durante el periodo 2006 al 2008.

VIII. CRITERIOS DE SELECCIÓN.-

Criterios de inclusión

1. Aislamientos en hemocultivos de cepas de *K. pneumoniae* o *E. coli* provenientes de pacientes hospitalizados con diagnóstico de sepsis durante el periodo comprendido de enero del 2006 a diciembre del 2008.
2. Aislamientos provenientes de pacientes hospitalizados con diagnóstico de base asociado a cuadro febril durante el período comprendido de 2006 a 2008.

3. Expedientes clínicos completos.
4. Se incluyó un solo aislamiento por paciente.

Criterios de exclusión

1. Aislamiento en hemocultivo de Enterobacterias distintas a las mencionadas
2. Cepas no viables.

IX. Variables.-

Variable dependiente: Resistencia de cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, aisladas en pacientes pediátricos con infecciones sistémicas.

Variable independiente: Producción de β -lactamasas de espectro extendido de *Klebsiella pneumoniae*, y *Escherichia coli*, aisladas en pacientes pediátricos sepsis.

Definición operacional de las variables:

- Resistencia: capacidad de un microorganismo para resistir los efectos de un antibiótico.
- Multirresistencia: Es la resistencia que presenta una bacteria a tres o mas antibióticos de distinto género considerados de primera línea en el tratamiento.
- β -lactamasas de espectro extendido: Son enzimas que fenotípicamente se caracterizan por conferir resistencia a penicilinas, cefalosporinas de tercera generación, aztreonam y ser inhibidas por el ácido clavulínico.

Análisis Estadístico

Se realizará análisis descriptivo de frecuencia, medidas de tendencia central y dispersión.

XI. MATERIAL Y METODOS.-

1.- Aislamientos de hemocultivos por sistema de BACT ALERT de cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* de pacientes pediátricos con diagnóstico de base asociado a cuadro febril durante el período comprendido de 2006 a 2008.

2.- Recuperación de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* de laboratorio de bacteriología intestinal para su resiembra en agar sangre y Mac Conkey e re identificación por método bioquímico.

3.- Análisis de perfil de sensibilidad antibiótica de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* por método automatizado existente en el hospital, VITEK ® e identificación de cepas multiresistentes.

4.- Pruebas de tamizaje para BLEE por método de Método de difusión en agar Kirby-Bauer y realización de prueba de doble disco para identificación de cepas productoras de BLEE.

5.- Identificación de cepas multiresistentes productoras de BLEE y cepas de BLEE resistentes.

6.- Relación del perfil de resistencia de los aislamientos a piperacilina-tazobactam, cefotaxima, cefepima, amikacina y ciprofloxacino con la presencia de BLEE.

Consideraciones Éticas.-

Se trata de un estudio que se realizará sobre microorganismos conservados del cepario del Laboratorio de Bacteriología Intestinal, dependiente del Departamento de Infectología, con la infraestructura necesaria y catalogada como nivel II de bioseguridad. Donde se manejan agentes de peligro moderado hacia el personal y el ambiente. Basado en la búsqueda en expedientes clínicos, no interfiere con la declaración de la Adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial Helsinki. No se necesita de consentimiento informado.

Tabla 1

ASILAMIENTOS DE ENTEROBACTERIAS EN HEMOCULTIVOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ DURANTE EL PERIODO 2006 AL 2008

	2006		2007		2008	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	75	36	78	38.1	108	48
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	72	34.7	69	33.6	63	28
<i>Enterobacter cloacae</i>	48	23.1	42	20.5	32	14.2
Otras	13	6.2	16	7.8	22	9.8
Total	208	100	205	100	225	100

Tabla 2

CEPAS DE *Escherichia coli* CON MULTIRRESISTENCIA Y PRODUCCIÓN DE BLEE AISLADAS DE HEMOCULTIVOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ DURANTE EL PERIODO 2006 AL 2008

	2006		2007		2008	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Multiresistentes	10	22	7	16	16	24
BLEE	18	39	11	26	22	32
Cepas	46	100	43	100	68	100

Se observa como para el 2006 de 18 cepas productoras de BLEE sólo el 50%(9) corresponde a cepas relacionadas con multiresistencia, para el 2007 de 11 cepas productoras de BLEE el 45.4%(5) está relacionada con multiresistencia y para el 2008 de 22 cepas productoras de BLEE el 59.1% está relacionada con multiresistencia. (Tabla 1, 2).

Tomando en cuenta la multiresistencia asociada con el mecanismo de producción de enzimas tipo BLEE, se percibió que durante el año 2006, de un total de 10 cepas multiresistentes 9 (90%) son productoras de BLEE y el resto 1 (10%) se puede atribuir a otro mecanismo; durante el 2007 de 7 cepas con fenómeno de multiresistencia, 5(71%) producen la enzima y 2 (29%) otro mecanismo; mientras que para el 2008 de 16 cepas multiresistentes el 81%(13) corresponde a cepas productoras de BLEE y el 19% (3) a otro mecanismo que permite la multiresistencia. (Tabla 3)

Tabla 3

ASOCIACIÓN ENTRE CEPAS DE *Escherichia coli* MULTIRESISTENTES CON LA PRODUCCIÓN DE BLEE.

	2006		2007		2008	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
BLEE	9	90	5	71	13	81
Otro Mecanismo	1	10	2	29	3	19
Total Cepas multiresistentes	10	100	7	100	16	100

Resistencia antibiótica.-

Para Piperacilina tazobactam, (tabla 4 y 5) la resistencia para el 2006, de 46 cepas evaluadas, es de 10.9 % (5) siendo 60%(3) relacionada con BLEE y el 40%(2) relacionado con otro mecanismo de resistencia, el 2007, de 43 cepas evaluadas, el 7%(3) son resistentes y de estas de estas cepas el 66.7%(2) relacionada a BLEE y el 33.3%(1) relacionada a otro mecanismo y para el 2008, de 68 cepas evaluadas, el 8.8% (6) son resistentes con el 83.3%(5) relacionada a BLEE y el 16.7%(1) relacionada a otro mecanismo.

Para cefotaxima (tabla 5 y 6) se tiene en el 2006 ,de 46 cepas evaluadas, un 28.3%(13) de resistencia, 84.6%(11) relacionada a BLEE el 15.4%(2) relacionada con otro mecanismo, el 2007,de 43 cepas evaluadas, 16.3% (7) de resistencia con un 57% (4)relacionada a BLEE y 43%(3) relacionado a otro mecanismo y para el 2008, de 68 cepas evaluadas, 32.4%(22)de resistencia con 72.8%(16) relacionada a BLEE y un 27.2%(6) relacionado a otro mecanismo.

Para Cefepima, de 46 cepas evaluadas, el 2006 se tiene un 21.7% (10) de resistencia, 90%(9) relacionada a BLEE y 10%(1) relacionada a otro a otro mecanismo, el 2007, de 43 cepas, se tiene 18.6%(8) de resistencia, 50% (4)relacionada con BLEE y 50%(4) relacionada a otro mecanismo, el 2008 ,de 68 cepas evaluadas, se tiene un 22% (15)de resistencia, el 80% (12)relacionada a BLEE y 20%(3) relacionada a otro.

Ninguna de las cepas fue resistente a Imipenem.

Para amikacina se tiene un 6.5%,(3), 4.7%(2) y 19.1 % (13) de resistencia para los periodos 2006,2007 y 2008 respectivamente.

Para Ciprofloxacino se tiene un 28.3%(13), 34.9%(15) y 33.8%(23) de resistencia para los periodos 2006,2007 y 2008 respectivamente.

Tabla 4

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD A 6 ANTIBIÓTICOS CEPAS DE *E. coli* AISLADAS EN HEMOCULTIVOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ DURANTE LOS PERIODOS 2006 A 2008.

	2006 (n = 46)		2007 (n = 43)		2008 (n = 68)	
	Resistencia		Resistencia		Resistencia	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Piperacilina Tazobactam	5	10.9	3	7.0	6	8.8
Cefotaxima	13	28.3	7	16.3	22	32.4
Cefepima	10	21.7	8	18.6	15	22.0
Imipenem	0	0	0	0	0	0
Amikacina	3	6.5	2	4.7	13	19.1
Ciprofloxacino	13	28.3	15	34.9	23	33.8

Tabla 5

TIPOS DE RESISTENCIA A 6 ANTIBIÓTICOS CEPAS DE *E. coli* AISLADAS EN HEMOCULTIVOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ DURANTE LOS PERIODOS 2006 A 2008.

	2006				2007				2008			
	® BLEE		® otro mecanismo		® BLEE		® otro mecanismo		® BLEE		® otro mecanismo	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Piperacilina Tazobactam	3	60.0	2	40.0	2	66.7	1	33.3	5	83.3	1	16.7
Cefotaxima	11	84.6	2	15.4	4	57.0	3	43.0	16	72.8	6	27.2
Cefepima	9	90.0	1	10.0	4	50.0	4	50.0	12	80.0	3	20.0
Imipenem	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amikacina	2	66.7	1	33.3	1	50.0	1	50.0	8	61.5	5	38.5
Ciprofloxacino	10	77	3	23.0	6	40.0	9	60.0	16	69.6	7	30.4

® = resistencia

Klebsiella pneumonie.-

Se observa como para el 2006 de 20 cepas productoras de BLEE el 40%(8) corresponde a cepas relacionadas con multiresistencia, el 2007 de 17 cepas productoras de BLEE el 17.6%(3) son multiresistentes y el 2008 de 10 cepas productoras de BLEE el 40%(4) son multiresistentes.

Tabla 6
MULTIRRESISTENCIA Y PRODUCCIÓN DE BLEE EN CEPAS DE *K. pneumoniae* AISLADAS EN HEMOCULTIVOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ DURANTE LOS PERIODOS 2006 AL 2008

	2006		2007		2008	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Multiresitentes	8	22	3	7	5	20
BLEE	20	56	17	40	10	40
Cepas	36	100	42	100	25	100

Tabla 7
MECANISMOS DE MULTIRRESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *K. pneumoniae* AISLADA EN HEMOCULTIVOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ DURANTE LOS PERIODOS 2006 AL 2008

	2006		2007		2008	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
BLEE	8	100	3	100	4	80
Otro Mecanismo	0	0	0	0	1	20
Total	8	100	3	100	5	100

En relación a la multiresistencia (tabla 7) vemos para el periodo 2006 de 8 cepas que presentaron este fenómeno el 100% (8) corresponden a BLEE, el 2007 de 3 cepas el 100% (3) corresponden a productoras de BLEE y para el 2008 de 5 cepas multiresistentes el 80% (4) corresponden a productoras de BLEE y el 20% (1) a otro mecanismo de multiresistencia.

Resistencia antibiótica.-

Para Piperacilina tazobactam, (tabla 8 y 9) la resistencia para el 2006 de 36 cepas evaluadas es de 38.9 % (14) siendo el 92.9% (13) relacionada con BLEE y el 17.1% (1) relacionado con otro mecanismo de resistencia, el 2007 de 42 cepas evaluadas el 26.2% (11) son resistentes y de estas de estas cepas el 81.8% (9) relacionada a BLEE y el 18.2% (2) relacionada a otro mecanismo y para el 2008 de 25 cepas evaluadas el 24% (6) son resistentes, con el 66.7% (4) relacionada a BLEE y el 33.3% (2) relacionada a otro mecanismo.

Para cefotaxima se tiene en el 2006 de 36 cepas evaluadas un 25%(9) de resistencia, el 100%(9) relacionada a BLEE, el 2007 de 42 cepas evaluadas, 9.5% (4) de resistencia con un 75% (3) relacionada a BLEE y 25%(1) relacionado a otro mecanismo y para el 2008 de 25 cepas evaluadas, 40%(10) de resistencia con 50% (5) relacionada a BLEE y un 50%(5) a otro mecanismo.

Para Cefepima de 36 cepas evaluadas el 2006 se tiene un 19.4% (7) de resistencia, 100%(7) relacionada a BLEE, el 2007 de 42 cepas se tiene 9.5%(4) de resistencia, 50% (2) relacionada con BLEE y 50%(2) relacionada a otro mecanismo, el 2008 de 25 cepas evaluadas se tiene un 16% (4) de resistencia, el 75% (3) relacionada a BLEE y 25%(1) relacionada a otro. Ninguna de las cepas fue resistente a Imipenem.

Para amikacina se tiene un 44.4%,(16), 28.6%(12)% y 28%(7) de resistencia para los periodos 2006, 2007 y 2008 respectivamente. Para Ciprofloxacino se tiene un 0%, 7.1%(3) y 0% de resistencia para los periodos 2006,2007 y 2008 respectivamente.

Tabla 8
PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD A 6 ANTIBIÓTICOS CEPAS DE *K. pneumoniae*
AISLADAS EN HEMOCULTIVOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
FEDERICO GOMEZ DURANTE LOS PERIODOS 2006 A 2008.

	2006 (36)		2007 (42)		2008 (25)	
	Resistencia		Resistencia		Resistencia	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Piperacilina Tazobactam	14	38.9	11	26.2	6	24.0
Cefotaxima	9	25.0	4	9.5	10	40.0
Cefepima	7	19.4	4	9.5	4	16.0
Imipenem	0	0	0	0	0	0
Amikacina	16	44.4	12	28.6	7	28.0
Ciprofloxacino	0	0	3	7.1	0	0

Tabla 9

TIPOS DE RESISTENCIA A 6 ANTIBIÓTICOS CEPAS DE *K. pneumoniae*
AISLADAS EN HEMOCULTIVOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
FEDERICO GOMEZ DURANTE LOS PERIODOS 2006 A 2008.

	2006				2007				2008			
	® BLEE		® otro mecanismo		® BLEE		® otro mecanismo		® BLEE		® otro mecanismo	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Piperacilina Tazobactam	13	92.9	1	7.1	9	81.8	2	18.2	4	66.7	2	33.3
Cefotaxima	9	100	0	0	3	75.0	1	25.0	5	50	5	50
Cefepima	7	100	0	0	2	50.0	2	50.0	3	75.0	1	25.0
Imipenem	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amikacina	15	93.8	1	6.2	8	66.7	4	33.3	4	57.1	3	42.9
Ciprofloxacino	0	0	0	0	1	33.3	2	66.7	0	0	0	0

® = resistencia

Discusión de resultados.-

Como se observa *E. coli* constituye la enterobacteria mas frecuentemente aislada durante los tres años seguida por *K. pneumoniae* y en tercer lugar encontramos a *E. cloacae*, nuestros resultados no difieren de los porcentajes reportados en el estudio SENTRY que desde 1997 realiza un programa de vigilancia de resistencias bacterianas en diferentes países con actualizaciones periódicas y que en el área pediátrica reporta a *E. coli* como la enterobacteria con mayor número de aislamientos

Los resultados nos muestran que la participación de BLEE en el fenómeno de resistencia bacteriana debe ser tomada en cuenta en dos aspectos diferentes, primero, la presencia de BLEE como causa de resistencia/multiresistencia y segundo, la ausencia de resistencia a pesar de la expresión de estas β -lactamasas.

Las cepas productoras de BLEE pueden o no ser resistentes a betalactámicos del tipo cefalosporinas y la producción y/o detección de estas enzimas no puede considerarse como dato aislado, sino tomarse con cautela, puesto que debe relacionarse con los perfiles de resistencia del microorganismo y evolución clínica del paciente tal como lo mencionan diferentes publicaciones (21.)

La asociación entre cepas productoras de BLEE con multiresistencia es un resultado significativo que debe tomarse en cuenta en el paciente con presencia de factores de riesgo para desarrollo de resistencia bacterianas (estancia hospitalaria prolongada, uso previo de antibióticos de amplio espectro, aislamientos previos de bacterias resistentes etc.) y la elección del esquema terapéutico empírico que deberá considerar estos porcentajes para evitar fracasos terapéuticos relacionados a presencia de resistencias bacterianas.

En el análisis de multiresistencia tanto para *E. coli* como para *K. pneumoniae* se observa que cepas multiresistentes no necesariamente son debidas a la expresión de BLEE sino que pueden deberse a un mecanismo de multiresistencia diferente y

que como sugieren diferentes publicaciones se debe tratar de identificar estos mecanismos para evitar así fracasos terapéuticos. (22)

E. coli fue la enterobacteria con mayor número de aislamientos en los tres años 40.7% vs. 32.1% para *K. pneumoniae* y esta última fue la enterobacteria con mayor porcentaje de producción de BLEE con un promedio de los tres años estudiados de 45.3% vs. 32.3% para *E. coli*. Así mismo fue *E. coli* quien mostro mayor porcentaje de multiresistencia con un promedio para los tres años de 20.7% frente a un 16.3% para *K. pneumoniae*. Esta relación de datos es la que se describe en reportes de estudios de diferentes autores tanto en grupos de estudio de población adulta y en población pediátrica (23)

Considerando piperacilina - tazobactam no forma parte de manera general de esquemas antibióticos de primera línea, con algunas excepciones, por los bajos porcentajes de resistencia en lo que se refiere a *E. coli* aún constituye una buena alternativa como esquema de segunda línea.

En el caso de *K. pneumoniae* se ve un incremento en la frecuencia de resistencia piperacilina tazobactam por arriba del 20% considerando que por su espectro antimicrobiano y características farmacológicas, se deberá tomar en cuenta estas resistencias a la hora de evaluar un cambio de esquema antibiótico considerando que *K. pneumoniae* es una enterobacteria frecuente en infecciones abdominales y bacteriemias.

Considerando la acción de cefalosporinas sobre *E. coli* se observa que la frecuencia de cepas resistentes se encuentra por arriba del 20% en el 2006 y 2008 para cefotaxima y cefepima, en el caso de la cefotaxima se ve como inclusive el 2008 su resistencia alcanza un 32.4% frente a un 22% de la cefepima, no todas estas cepas resistentes están relacionadas a BLEE sino un 72.8% y 80% para cefotaxima y cefepima respectivamente, entonces a la hora de considerar iniciar un esquema antibiótico empírico habrá que tomar en cuenta las probabilidades y/o factores de

riesgo que tiene el paciente para presentar en primer lugar resistencia antibiótica y en segundo lugar que esta resistencia esté relacionada con BLEE para así prevenir fracasos terapéuticos que obligan a rotaciones antibióticas incrementando la morbilidad y mortalidad de estos pacientes casi siempre críticos y en unidades de terapia intensiva o patología crónica.

En el caso de *K. pneumoniae* es importante hacer una diferencia en cuanto a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación en lo referente a su relación con BLEE ya que siendo que ambas comparten la estructura química básica de la familia de las cefalosporinas no expresan el mismo perfil de resistencia antibiótica, para cefotaxima 25% y 40% en los periodos 2006 y 2008 respectivamente y 19.4% y 16% para cefepima en los mismos periodos esto a pesar de la presencia de BLEE en porcentajes similares para el 2006 en ambos antibióticos del 100% y para el 2008 inclusive superior para cefepima con un 75% frente a un 50% de cefotaxima. Este fenómeno también se observa en *Escherichia coli* con relaciones semejantes en cuanto a resistencias y presencia de BLEE.

De acuerdo a la descripción y caracterización de las betalactamasas hecha por Bush Jacoby y Medeiros en 1995 las BLEE se diferencian de las demás β -lactamasas en que su espectro incluye las amino y ureidopenicilinas, penicilinas de segunda y tercera generación y monobactamas. La cefepima fue introducida al mercado el mismo año de la clasificación de Bush por lo que no se hace referencia a este antibiótico en las descripciones originales del tema y considerando que la cefepima tiene una estructura química diferente a las cefalosporinas de tercera generación, además de sus características antimicrobianas, el análisis de este antibiótico debe realizarse por separado a la hora de considerar resistencias bacterianas y producción de BLEE por enterobacterias como *E. coli* y *K. pneumoniae* ya que estas diferencias químicas hacen que cefepima tenga un perfil de sensibilidad y/o resistencia antibiótica diferente al de las cefalosporinas de tercera generación con lo que respecta a enterobacterias productoras de BLEE.

Considerando que la recomendación para el uso de un antibiótico en la práctica clínica indica que no debe hacerse uso de este si las resistencias reportadas a este superan el 20% (2) el uso de cefalosporinas de tercera generación en pacientes con factores de riesgo para adquirir una cepa productora de BLEE, deberá evitarse para disminuir la morbilidad y mortalidad de la patología de base por la demora en un tratamiento oportuno.

Con respecto a ciprofloxacino y amikacina en los cuales la producción de BLEE no constituye su mecanismo de resistencia bacteriana, sin embargo se describe un incremento a la resistencia bacteriana asociada a producción de BLEE. Este hecho ya descrito en otros trabajos (22) está relacionado al tipo de resistencia y transferencia mediada por plásmidos con información asociada.

Sera necesario continuar las diferentes líneas de investigación que hasta aquí se han ido abriendo como la correlación clínica de de presencia de BLEE y respuesta terapéutica, evaluación de esquemas antibióticos de manejo empírico con base en la sospecha diagnóstica y su respuesta clínica para poder contar con un análisis completo de la presencia de bacterias resistentes en un medio hospitalario y en particular del Hospital Infantil de México que tiene características particulares en cuanto al tipo de pacientes que atiende así como al tipo de esquemas empleados.

Considerando que la recomendación para el uso de un antibiótico en la práctica clínica indica que no debe hacerse uso de este si las resistencias reportadas a este superan el 20% (2) el uso de cefalosporinas de tercera generación en pacientes con factores de riesgo para adquirir una cepa productora de BLEE, deberá evitarse para disminuir la morbilidad y mortalidad de la patología de base por la demora en un tratamiento oportuno.

Con respecto a ciprofloxacino y amikacina en los cuales la producción de BLEE no constituye su mecanismo de resistencia bacteriana, sin embargo se describe un incremento a la resistencia bacteriana asociada a producción de BLEE. Este hecho ya descrito en otros trabajos (22) está relacionado al tipo de resistencia y transferencia mediada por plásmidos con información asociada.

Sera necesario continuar las diferentes líneas de investigación que hasta aquí se han ido abriendo como la correlación clínica de presencia de BLEE y respuesta terapéutica, evaluación de esquemas antibióticos de manejo empírico con base en la sospecha diagnóstica y su respuesta clínica para poder contar con un análisis completo de la presencia de bacterias resistentes en un medio hospitalario y en particular del Hospital Infantil de México que tiene características particulares en cuanto al tipo de pacientes que atiende así como al tipo de esquemas empleados.

XIII. Conclusiones.-

E. coli fue la enterobacteria con mayor número de aislamientos y mayor porcentaje de multiresistencia en los tres años. En tanto que *K. pneumoniae* ocupa el segundo lugar de frecuencia de aislamiento y fue la enterobacteria con mayor porcentaje de producción de BLEE tanto en el total de cepas, siendo el mecanismo más asociado a resistencia.

La frecuencia observada no difiere de otros estudios nacionales e internacionales en población pediátrica.

La capacidad de producción de BLEE como mecanismo de resistencia en estas enterobacterias depende de la especie, 45.3% *K. pneumoniae* y 32.3% *E. coli*, sin embargo no se encuentra directamente relacionado a la resistencia antibiótica.

La mayor resistencia presentada por *E. coli* en los tres años fue a cefotaxima (26.8%) y cefepima (21%) siendo 100% sensible a Imipenem. Efecto similar presentado para *Klebsiella pneumoniae* cefotaxima (22.3%) cefepima (11.46%) e Imipenem (0%). Aunado de la resistencia a piperacilina tazobactam en un 30.1%.

El empleo de cefalosporinas de tercera generación puede aun ser de empleo clínico en pacientes seleccionados, tomando en cuenta las resistencias locales repostadas, producción de BLEE por enterobacterias y factores de riesgo individuales por lo que la decisión de iniciar un esquema antibiótico empírico con estos antibióticos debe ser evaluada en este contexto por el médico que maneje este tipo de pacientes.

Siendo que el Hospital Infantil de México atiende en un gran porcentaje a pacientes con factores de riesgo para adquirir cepas productoras de BLEE se debe tomar especial atención en identificar características como diagnóstico clínico, esquema antibiótico inicial, diagnóstico microbiológico y pruebas de susceptibilidad, para respaldar la modificación de ciertos esquemas de tratamiento antibiótico empírico como por ejemplo el cambio de esquema antibiótico de primera línea en el paciente oncológico neutropénico febril de ceftazidima-amikacina a cefepima-amikacina.

Si bien los resultados de las intervenciones terapéuticas que llevamos a cabo en pacientes hospitalizados, que no solo se resumen al manejo antibiótico, se ven reflejados en la respuesta clínica de los mismos se debe hacer un continuo control de la epidemiología de las infecciones nosocomiales ya que resultados de estas se pueden orientar y guiar en esas intervenciones.

Deberán desarrollarse estrategias dirigidas a enfocar el problema de las resistencias bacterianas de manera activa y con acciones conjuntas entre los diferentes

departamentos o servicios involucrados en el manejo de las infecciones nosocomiales y no suplantar con el uso indiscriminado de antibióticos la aplicación de medidas de control de infecciones nosocomiales.

XIV. BIBLOGRAFIA

1. Salas C, Gil-Setas A, Mazón A. Etiología y sensibilidad antibiótica de las infecciones extrahospitalarias más frecuentes. Anales Sistema Sanitario de Navarra 2006, Vol. 29, Nº 1, paginas.
2. Junquera S, Loza E, Baquero F. Evolución del patrón de sensibilidad de aislados de *Escherichia coli* en urocultivos procedentes del medio hospitalario y extrahospitalario. Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica. 2005; 23: 197-201.
3. Paterson L. Bonomo R. A Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update Clinical Microbiology Reviews, October 2005, p. 657-686, Vol. 18, No. 4.
4. Bradford P. Extended spectrum β -lactamases in the 21st century: caracterizacion, epidemiology, and detection of this important resistant Threat. Clin Microbiol Rev. 2001;14:933-51
5. Sánchez L., Ríos R., Máttar s. Detection of extended spectrum beta-lactamases (ESBL) in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in a clinic in Villavicencio, Colombia. Asociación de Infectología. Vol. 12 No 3, Septiembre de 2008
6. Martínez P., Espinal P, Bustos A, Máttar S. Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de espectro extedido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería. Med UNAB. 2005; 8:15-22.
7. Yun-Kyung K., Hyunjoo P., Hoan J., and cols. Bloodstream Infections by Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Children: Epidemiology and Clinical Outcome Antimicrobial Agents and Chemotherapy, May 2002, p. 1481-1491, Vol. 46, No. 5

8. Deshpande LM, Fritsche TR, Jones RN. Molecular epidemiology of selected multidrug-resistant bacteria: a global report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004 Aug;49(4):231-6
9. Brenner D.J. *Enterobacteriaceae*. En: Krieg N. R., Holt J. G., eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984; 408-516.
10. Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant β -Lactamases. <http://www.lahey.org/Studies/>
11. Murray P. Baron E, Pfaller M. *Manual of Clinical Microbiology*. Antibacterial Agents. Sixth Edition 1995. Cap. 111, Pag: 1281-1307.
12. Walter T. Hughes, Donald Armstrong, Gerald P. Bodey, Guidelines for the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer. *Clinical Infectious Diseases* 2002; 34:730–51
13. Garcia-Rodriguez A. Picazo J., Picazo G. Infecciones por enterobacterias.. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. Fifth Edition. Capitulo 108. Pag.: 1431-1449.
14. Laurence L. Brunton, John S. Lazo, Keith L. Parker. *Farmacos antimicrobianos: Penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos B-lactamicos*. Goodman & Gilman. *Las Bases Farmacológicas de La Terapéutica*. 11va. Edicion. Cap.: 45, Pag.: 1141-1171.
15. Mandell G., Bennett J., Dolin Raphael. *Enterobacteriaceae*. *Mandell's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Sixth Edition. Pag.: 2567- 2585.

16. Fernández R, López H., Ponce M. Resistencia Bacteriana. Revista Cubana Medicina 2003;32(1):44-8
17. Laurence L. Brunton, John S. Lazo, Keith L. Parker. Fármacos antimicrobianos: Penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos B-lactámicos. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de La Terapéutica. 11va. Edición.
18. Tenover F., Raney P., Williams P. and cols. Evaluation of the NCCLS Extended-Spectrum β -Lactamase. Confirmation Methods for *Escherichia coli* with Isolates Collected during Project ICARE. Journal of Clinical Microbiology, July 2003, p. 3142–3146 Vol. 41, No. 7
19. Bush K., Jacoby G., Medeiros A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1211-1233.
20. Lewis J., Herrera M., Wickes B., and cols. , First Report of the Emergence of CTX-M-Type Extended-Spectrum beta-Lactamases (ESBLs) as the Predominant ESBL Isolated in a U.S. Health Care System_ ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Nov. 2007, p. 4015–4021 Vol. 51, No. 11.
21. Jones R. Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years: Chest. 2001 Feb; 119 (2 Suppl):397S-404S.
22. Rossolini G., Mantengoli E. Epidemiology of infections caused by multiresistant gram-negatives: ESBLs, MBLs, panresistant strains. New Microbiol. 2007 Jul;30(3):332-9.

23. Paterson L. Assessment of pathogen frequency and resistance patterns among pediatric patient isolates: report from the 2004 SENTRY Antimicrobial Surveillance Program on 3 continents: *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006 Dec;56(4):427-36