



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA

“IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SOSPECHOSAS DE PRODUCCIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN EL HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA 2009”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA:

ESPECIALIDAD DE PEDIATRIA

PRESENTA:

DR. GIUSSEPE DOMÉNICO PÉREZ MOYA

HERMOSILLO, SONORA

30 de julio 2010



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA

“IDENTIFICACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* Y *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SOSPECHOSAS DE PRODUCCIÓN DE BETA LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN CEPAS DE EN EL HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA 2009”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE PEDIATRIA

PRESENTA:

DR. GIUSSEPE DOMÉNICO PÉREZ MOYA

DR. RAMIRO GARCÍA ÁLVAREZ

PROFESOR TITULAR CURSO UNIVERSITARIO

DR. LUIS ANTONIO GONZALEZ RAMOS

JEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA
E INVESTIGACION

DR. VICTOR MANUEL CERVANTES

DIRECTOR GENERAL DEL HIES

ASESOR:

DR. MANUEL ALBERTO CANO RANGEL

JEFE DEL SERVICIO DE INFECTOLOGIA

HERMOSILLO, SONORA

30 de Julio 2010

Agradecimientos

Agradezco primeramente a Dios por haberme permitido practicar la medicina, a mis padres Gonzalo y Coyo por alentarme día con día a seguir adelante y nunca decaer ante la adversidad.

A mi esposa Laura por tenerme la paciencia que se necesita para poder salir adelante, puesto que la residencia es una novia muy celosa; a mi hija Georgina por ser el principal motor de mi vida y por re-encender la llama del interés por la pediatría que en algún momento perdí.

A mi abuelita Tichi quien a pesar de no estar conmigo, siempre ha sido y seguirá siendo un ejemplo de vida para mí.

A mi abuela Lilian quien ha sembrado en mí la semilla de la humanidad.

A mis hermanos, sobrinos Vania, Gonzalo, Alma, Lilyan, Ivan, Ariadna, Chalito y Jonny; quienes a pesar de mis errores y de mis disgustos siempre estuvieron dispuestos a brindarme una palabra de paz y de aliento.

A mis tíos y primos quienes confían en los conocimientos que he adquirido a los largo de estos años y quienes han puesto su salud y esperanza en mis manos.

A mis amigos Nayeli, Doris, Sandra, Ana, Saul, Dara, Alex, Anette, Srul, Ale, Orlando, Alfonso; quienes siempre, ante las dificultades que representa la residencia médica, supieron hacerme reír y quienes en mis momentos más

oscuros durante estos tres años me brindaron su apoyo incondicional para salir adelante.

A mis maestros Dr. Cano, Dr. Alapisco, Dra. Durazo, Dr. Dorame, Dr. Ramirez, Dr. Martínez, Dra. Acosta, Dr. Gomez, Dr. Bojorquez, Dr. Sotelo, Dr. Ramiro García y Dra. Barraza. Quienes con sus enseñanzas y consejos, no solo médicos, sino como ejemplos de seres humanos me han dado el mejor de los ejemplos de vida para ser un pediatra emprendedor y siempre en busca de nuevos retos.

A la niñez sonorense y a sus padres quienes ciegamente depositaron su confianza en mí durante estos 3 años de mi vida y a quienes sin duda serviré mientras mis conocimientos y habilidades les sean útiles.

A todos ustedes muchas gracias.

Índice

Agradecimiento.....	
Resumen.....	
Marco Teórico.....	
Planteamiento del Problema.....	
Justificación.....	
Pregunta De Investigación.....	
Objetivos.....	
Materiales y Métodos.....	
Resultados.....	
Discusión.....	
Conclusiones.....	
Bibliografía.....	
Anexos.....	

Resumen

Introducción: Descritas por primera vez en 1983 las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) han contribuido al incremento dramático en la resistencia de las bacterias gramnegativas a agentes beta lactámicos en años recientes. Estas enzimas son codificadas por genes que se encuentran en los plásmidos; hidrolizan penicilinas, cefalosporinas de todas las generaciones así como aztreonam y son inhibidas por el ácido clavulánico. Son comúnmente producidas por *E. Coli* y *Klebsiella spp.* Se ha documentado la presencia de BLEE en 4 continentes, lo que nos demuestra la magnitud del problema al cual nos enfrentamos.

Materiales y Métodos: Se analizaron las cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* aisladas a partir de Enero 1 hasta octubre 31 de 2009. Posteriormente se probó la sensibilidad antimicrobiana de estas cepas en el equipo automatizado Vitek 2 clasificándolas como sospechosas o no de producir BLEE en base las normas del CLSI 2008.

Resultados: Encontramos 185 cepas *E. coli* y 122 de *k. pneumoniae*. Con una proporción de *E. coli* sospechosa de producir BLEE de 30.2% y 44.2% para *K. pneumoniae*.

Conclusiones: Los recursos en nuestro hospital actualmente se encuentran limitados para realizar identificación fenotípica de cepas productoras de BLEE por lo que deberemos de realizar lectura interpretativa del antibiograma reportado, actualmente para tomar decisiones terapéuticas acertadas. Deberemos de realizar nuevas investigaciones para confirmar los hallazgos encontrados en nuestra

investigación y deberemos mantener vigilancia constante en cuanto a la epidemiología microbiológica de nuestra institución.

Palabras clave: Resistencia, BLEE, gramnegativos, sensibilidad, prevalencia, investigación.

Summary

Introduction: Described for first time in 1983, the extended spectrum beta-lactamases (ESBL) had contributed to a dramatic raise in gramnegative bacteria antibiotic resistance in the last years. These enzymes are codified by genes that are present in plasmids; they hydrolyze penicillin, all generation cephalosporin, and aztreonam and can be inhibited by clavulanic acid. This, are usually produced by *E. coli* and *Klebsiella spp.* The presence of ESBL has been documented in four continents, which show us the magnitude of the problem we face.

Materials and methods: We analyzed strains of *klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* that had been isolated since January 1st trough October 31st 2009. later we tested antibiotic susceptibility using a Vitek 2 equipment, classifying them in two groups: ESBL positive and negative based on CLSI manual 2008.

Results: We found 185 *E. coli* and 122 *K. pneumoniae* strains. With a prevalence of 30.2% of ESBL suspected *E. coli* strains and 44.2% in *K. pneumoniae* strains.

Conclusions: The resources for phenotypic identification of ESBL bacteria are limited in our hospital at the time of our research, so we must make an interpretative reading of the current susceptibilty reports, so we can make successful therapeutic decisions. We must make new researches in order to confirm our findings and we should keep constant surveillance in microbiologic epidemiology of our institution.

Keywords: Resistance, ESBL, gramnegative bacteria, susceptibility, prevalence, research.

Marco Teórico

Aunque la identificación, el conocimiento y el papel que juegan los microorganismos como responsables de las enfermedades infecciosas son hechos recientes, el interés por conocer las causas de la infección y el modo de combatirla comenzaron mucho antes; son tan viejos como el hombre, ya que con la hominización nació también la conciencia del mal.

Este fenómeno ha ido progresando a la par con el desarrollo intelectual y científico del hombre, los griegos aportaron un gran avance, pasando del uso instintivo de plantas a la observación de fenómenos de la enfermedad misma ¿qué es el enfermo, qué es el remedio, por qué se hace lo que se hace? Posteriormente nace el “empirismo racionalizado” en los siglos XVI-XVIII, durante este tiempo se utilizó el método de la medicina basada en experiencia, repitiendo una serie de patrones y terapéuticas para las enfermedades infecciosas sin el conocimiento de la patología como tal.

El verdadero conocimiento científico de la enfermedad comienza en la segunda mitad del siglo XIX, sobre todo a partir del establecimiento de L. Pasteur y R. Koch del origen microbiano de las infecciones y del enorme despliegue de la farmacología, que trajo consigo una nueva forma de curar basada en una terapéutica científica.

La mentalidad etiopatológica, que estaba basada fundamentalmente en la teoría del germen de L. Pasteur, en las famosas reglas que R. Koch estableció

para poder afirmar que “tal microbio” es el verdadero causante de “tal enfermedad” y en la afirmación de E. Klebs –la enfermedad es siempre infección, dependiendo el cuadro clínico correspondiente del germen infectante– provocó un cambio fundamental en la manera de concebir la enfermedad y su tratamiento.

A partir de esa premisa, el gran investigador alemán P. Ehrlich pudo abrir un nuevo camino para el desarrollo de la quimioterapia antimicrobiana con el inicio de la terapéutica experimental. Desarrollando el salvarsán, potente fármaco arsenical contra la sífilis, que supuso la culminación de los trabajos de Ehrlich, lo que constituyó la primera gran victoria de la quimioterapia y sentó las bases de un nuevo concepto que más tarde se desarrollaría con la introducción del protosol y la utilización clínica de la penicilina. De este momento en adelante se inició el tratamiento dirigido al agente etiológico de la infección en particular, y de la enfermedad en general.

Como consecuencia de introducción de los antimicrobianos en la práctica clínica a partir de 1950 las enfermedades infecciosas dejaron de ocupar los primeros lugares de mortalidad global en países desarrollados.

Al inicio de la era de los antibióticos todo hacía presagiar que el fin de las enfermedades infecciosas estaba próximo, compartiendo la humanidad entera el mismo júbilo e idénticas ilusiones.

No obstante, durante los últimos treinta años han surgido una serie de hechos que no permiten seguir manteniendo el optimismo inicial y la euforia de haber

iniciado la “batalla definitiva” contra las bacterias. Algunas infecciones extra-hospitalarias no sólo no han disminuido, sino que han sufrido una auténtica metamorfosis que las hace más variadas y de diagnóstico más difícil, sin mencionar ciertas infecciones nosocomiales, producidas por auténticos “acorazados microbianos”, los cuales han aumentado de forma incesante y alarmante a consecuencia del uso masivo e indiscriminado de los antibióticos.

La investigación farmacéutica ha permitido en el último cuarto de siglo disponer de un verdadero arsenal terapéutico, pero, paradójicamente, en el momento actual puede resultar insuficiente en algunos casos concretos. Las estrategias que las empresas farmacéuticas ya han puesto en marcha son variadas y pasan por el rastreo de nuevas moléculas, por la búsqueda de más sitios específicos de acción, el desarrollo de terapias génicas, por el “reciclaje” de antibióticos ya conocidos.

Han transcurrido setenta años desde el descubrimiento y más de cincuenta desde la introducción de la penicilina en la práctica clínica. La penicilina fue el primer antibiótico de la historia para uso clínico, con un origen en los propios microorganismos, y también el que inició la familia de los antibióticos betalactámicos.

Al hecho de cuando una bacteria presenta una susceptibilidad disminuida o nula a determinado antibiótico se le conoce como resistencia bacteriana. Médicamente y de una forma práctica también se considera resistente a una

bacteria cuando no es inhibida por las concentraciones de antibiótico que se alcanzan en el lugar donde la bacteria está produciendo una infección.

Existen bacterias con resistencia natural, que aparece de forma preestablecida al carecer de la diana adecuada (ej. la resistencia de *Mycoplasmas* a betalactámicos). Particularmente la más importante y trascendente es la resistencia adquirida, aquella que aparece en bacterias que previamente eran sensibles. Probablemente este fenómeno es muy antiguo y se remonta al momento de la aparición de los primeros procariotas, cuando alguno de ellos comenzó a producir sustancias antibióticas y adquirió mecanismos de “autoprotección”. Así, y ya desde los comienzos, la existencia de un antibiótico crea la necesidad de resistencia como medida de protección.

La resistencia bacteriana aparece fundamentalmente por cuatro mecanismos:

- 1- Síntesis de diversas enzimas que hidrolizan o modifican los antibióticos,
- 2- Alteraciones en la permeabilidad de la bacteria,
- 3- Expulsión activa y,
- 4- Modificaciones en el lugar de acción de los antibióticos.

Probablemente, la primera detección de resistencia relacionada con la utilización de sustancias antibióticas se produjo a comienzos del siglo XX durante los ensayos clínicos realizados para valorar la utilidad de la optoquina en el tratamiento de la neumonía neumocócica en 1917.

En 1940, E. Abraham y E. Chain descubrieron una enzima de *Escherichia coli* que destruía la penicilina. Los autores sugirieron que tal enzima, a la que habían denominado penicilinasas, intervenía en la resistencia de las bacterias que la producían. Un poco más tarde, Kirby también explicó las resistencias de *S. aureus* por la capacidad de este microorganismo de sintetizar penicilinasas.

Desde los años 60 se han reportado brotes por *S. aureus* resistentes a penicilina. A la par los gramnegativos –también capaces de generar betalactamasas– adquirieron un alto protagonismo como causantes de las infecciones. En 1961 apareció la ampicilina, un buen antibiótico, que carecía de actividad frente a *Pseudomonas* y algún otro bacilo gramnegativo oportunista. Carbenicilina, surgida en 1967, resolvió alguno de estos problemas. Amoxicilina, descubierta por Nayler y Smith, registrada en 1964 y comercializada en 1972, aportaba ventajas farmacocinéticas y pronto se convirtió en el antibiótico más popular. Por estas fechas el número de bacterias que producían enzimas capaces de dañar a la ampicilina había aumentado notablemente y a las primeras penicilinasas se había unido una multiplicidad de betalactamasas procedentes de diversas bacterias.¹

Descritas por primera vez en 1983 las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) han contribuido al incremento dramático en la resistencia de las bacterias gramnegativas a los agentes beta lactámicos en los últimos años.^{2,3,4}

Estas enzimas son codificadas por genes que por lo general se encuentran en los plásmidos bacterianos hidrolizan penicilinas, cefalosporinas de todas las generaciones así como aztreonam y son inhibidas por el ácido clavulánico.

Aunque son comúnmente producidas por *E. Coli* y *Klebsiella spp.* posiblemente también sean producidas por otros bacilos gramnegativos incluidos en la familia de las enterobacteriaceas ^(2,4)

La producción de betalactamasas es el mecanismo enzimático más importante para destruir los antibióticos betalactámicos. Éstas constituyen una familia de proteínas que degradan o modifican las drogas betalactámicas antes de que alcancen sus sitios blanco^{4,5}. Estas enzimas se unen de forma covalente al anillo betalactámico hidrolizando la unión amino presente en su estructura. A pesar de que la primera betalactamasa fue reconocida en 1940 en *E. coli* (anteriormente *bacillus coli*), la importancia de este mecanismo de resistencia no fue reconocida hasta 1944, cuando la producción de penicilinas en *Staphylococcus aureus* se asoció a falla en la evolución clínica de los pacientes infectados. El problema de la producción de betalactamasas en bacilos gramnegativos se volvió aparente en 1960 con la primera descripción del aislamiento de una cepa de *E. Coli* resistente a aminopenicillinas debido a la producción de betalactamasa TEM-1.⁶ Posteriormente se identificó la primera clase de BLEE en una cepa de *Klebsiella ozenae*.⁷ Estas enzimas se han difundido de manera mundial principalmente debido al uso excesivo de oxiamino-beta lactámicos y la mala higiene hospitalaria; otra causa de su rápida diseminación sea probablemente su codificación genética la cual es principalmente basada en plásmidos los cuales son fácilmente transferidos entre las diferentes cepas de la misma especie e incluso entre especies de gramnegativos.^{7,8,9,10}

Mientras que una variedad de métodos fenotípicos y moleculares se han utilizado para confirmar la presencia de BLEE en estudios clínicos su uso es demasiado laborioso para ser práctico en la identificación de rutina en los laboratorios microbiológicos² por lo tanto se han desarrollado varios métodos de detección de BLEE con el fin de realizar un cribado rápido para identificar microorganismos productores de estas enzimas, de tal forma que se han logrado encontrar métodos altamente sensibles, rápidos y de menor costo que los métodos de biología molecular, tales métodos se basan en la aplicación de discos de antibióticos sobre las cepas aisladas en agar Mueller-Hinton, así como la medición de concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) utilizando el método de microdilución en caldo de cultivo, estos métodos están normados por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), quienes se han encargado de publicar guías específicas para aplicar dichos métodos en la detección de bacterias productoras de BLEE las cuales determinan y explican de forma detallada la interpretación de los hallazgos obtenidos como positivos o negativos.^{7,9,11,12}

A pesar de que principalmente se conocen como patógenos hospitalarios, los organismos productores de BLEE han sido encontrados como patógenos de la comunidad durante la última década. La evolución de dichos organismos ha sido estudiada en España desde 1995 en una población de 500,000 españoles en Sevilla, España, desde 1995 hasta 1998 solo se encontraron 14 cepas de *E. coli* productoras de BLEE, la situación cambio abruptamente en 2000 cuando 53 aislamientos fueron identificados con incremento en el número de

cepas en los años ulteriores (106 en 2001 y 114 en 2002); documentándose posteriormente la presencia de cepas productoras de BLEE en pacientes ambulatorios en otras regiones de España e Israel.⁹ De igual forma se han encontrado en Colombia,⁷ Estados Unidos, Alemania, Francia, Japón, Argentina, Brasil, Canadá, Turquía, México, Chile, Grecia y Bélgica.^{13,14,15} Lo que nos demuestra la magnitud del problema al cual nos enfrentamos en el uso de antibióticos de amplio espectro.^{16,17,20}

Existen antecedentes de investigaciones realizadas en nuestro país acerca de cepas multirresistentes, en nuestra investigación bibliográfica hemos encontrado artículos que reportan cepas de *Pseudomona spp.* *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus* multirresistentes, sin embargo se probó la sensibilidad de *enterococcus* a vancomicina y dosis altas de ampicilina así como *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina en un 33% y 100% a teicoplanina¹⁸

En 2003 se identificaron cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *E. Coli* aisladas en múltiples cultivos hospitalarios y extra-hospitalarios encontrando una prevalencia de 5% de cepas productoras de BLEE. Además se identificó resistencia cruzada con antibióticos no betalactámicos como trimetropim-sulfametoxazol y amikacina.²¹

En el reporte de la Unidad de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria de nuestra institución se encuentran como los principales agentes aislados en hemocultivos en infecciones nosocomiales en orden descendiente de

frecuencia (ver Grafica 1) donde destaca la presencia de cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli*.

Antecedentes directos de nuestro estudio son las investigaciones realizadas por Thomson en 2007 en Estados Unidos²² y por Treviño en 2008 en España.

²³ Thomson comparó la sensibilidad de los equipos automatizados para antibiograma Vitek 2 utilizando la tarjeta AST-N09 (Biomérieux, Marseille, Francia) y Phoenix Systems UNMIC/ID-62(Beckton-Dickinson, Maryland, Estados Unidos) para la tipificación fenotípica de producción de BLEE y encontró sensibilidad de 96% para el equipo Phoenix y de 99% para el Vitek 2. Treviño reporta una sensibilidad de 99.5% para Vitek 2 y de 95.3% para Phoenix Systems. En ambos estudios se realizaron antibiogramas por medio de microdilución en caldo de agar de cepas conocidas como productoras de BLEE. Demostrándose la efectividad del equipo Vitek 2 utilizado en el presente estudio, y a pesar de que no se utilizó la misma tarjeta AST-N09, nos permite identificar cepas sospechosas de BLEE.^{22,23}

Planteamiento Del Problema

En la actualidad las infecciones constituyen un problema mundial de salud pública.

Las infecciones por bacterias resistentes a los antimicrobianos son cada vez más frecuentes, específicamente *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, poseen la capacidad de compartir y adquirir información a través de plásmidos, por lo que en un mundo globalizado la producción de BLEE puede diseminarse

Por una parte *Escherichia coli*, considerado un germen común en infecciones de vías urinarias, ha adquirido la capacidad de producir BLEE, además ha desarrollado resistencia a cotrimoxazol, reduciendo las opciones terapéuticas. Además *Klebsiella pneumoniae* representa un agente frecuentemente asociado a infecciones nosocomiales, lo que representa costos elevados a los diferentes sistemas de salud en el mundo sin ser la excepción el nuestro.

Las cepas de enterobacterias (ej. *K. pneumoniae* o *E.coli*) productoras de BLEE se asocian de manera frecuente a resistencia cruzada con otros antibióticos no betalctámicos como aminoglucósidos, fluoroquinolonas y macrólidos, disminuyendo las opciones del arsenal terapéutico lo al uso de carbapenemicos, estos cambios en la susceptibilidad bacteriana conducen a un incremento en la morbi-mortalidad, incrementando los costos económicos del tratamiento de los pacientes infectados por este tipo de bacterias.

En nuestro hospital las infecciones nosocomiales representan como en todos los hospitales un riesgo en la evolución del paciente que las padece, prolongando la

estancia hospitalaria, recibiendo variados y múltiples esquemas antimicrobianos, siendo algunos de ellos portadores de infecciones por cepas productoras de BLEE, por lo general dichos pacientes no presentan una evolución satisfactoria y por el contrario progresan hacia la muerte.

Por lo anteriormente expuesto considero que nos enfrentamos ante un problema serio, donde es fundamental tener un conocimiento amplio de la microbiología hospitalaria, los perfiles de susceptibilidad-resistencia de la misma, dirigido hacia el establecimiento de un órgano intrahospitalario que controle, reduzca y optimice la utilización de los antimicrobianos, con el propósito de brindar una atención de calidad a los pacientes, este equipo de profesionales lo representa el comité de antimicrobianos, siendo la presente investigación el primer paso para lograrlo.

Afortunadamente en nuestro hospital contamos con personal calificado, equipo tecnológico suficiente, adecuado y recursos materiales para lograr lo antes expuesto; por lo tanto la identificación de la flora propia así como su susceptibilidad ante los diferentes agentes antibióticos resulta relativamente sencillo. Sin embargo debemos no solo limitarnos a la identificación de estos gérmenes, en la actualidad se cuentan con recursos como las tarjetas para Vitek 2 en las cuales se incluyen una asociación de antimicrobianos que nos permiten identificar en 99 a 99.5% de las cepas que han desarrollado BLEEs.

Justificación

Las cepas productoras de BLEE representan un importante problema de salud pública, ya que presentan resistencia a la mayoría de los betalactámicos, y con frecuencia muestran resistencia cruzada a antimicrobianos de otras familias; observándose un incremento en su incidencia, incluso en el ámbito extrahospitalario ^{3,9,11}. Por otra parte estudios in Vitro y en modelos animales demuestran que este tipo de cepas pueden mostrar incremento en resistencia a medida que aumenta el tamaño del inóculo, lo que conduce a fracaso terapéutico e incremento de la mortalidad en pacientes infectados por este tipo de microorganismos. Otra razón de peso para detectar la producción de BLEE en nuestro hospital, se refiere a las infecciones causadas por *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de este tipo de enzimas se asocian a estancias hospitalarias prolongadas y incrementando el costo para los sistemas de salud. ¹⁷ Actualmente no se han documentado la existencia de dichas bacterias en nuestro medio ni cuál repercusión clínica y terapéutica.

Objetivos

General

Demostrar la presencia de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* sospechosas de ser productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en el HIES en 2009.

Particulares

1. Identificar por servicio la presencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* sospechosas de producir de BLEE.
2. Determinar la frecuencia de las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* sospechosas de ser productoras de BLEE.
3. Identificar patrones de resistencia cruzada con otros antimicrobianos en las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*
4. Observar la asociación entre las infecciones por cepas sospechosas de producir BLEE y mortalidad.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, observacional, transversal y ambispectivo en el cual se analizaron las cepas aisladas en medios de cultivo de *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli* consecutivas durante el periodo del 1 Enero de 2009 hasta el 31 de Octubre de 2009. Incluyendo todas aquellas aisladas en pacientes con rango de edad de 0 días y 18 años 11 meses, se excluyeron todas las cepas aisladas de muestras procedentes del Hospital Integral de la Mujer del Estado de Sonora, de igual forma no se tomaron en cuenta para el presente estudio aquellas cepas en las cuales se probara una tarjeta de antibiograma diferente a AST-GN09. Posteriormente se probó la sensibilidad antimicrobiana de estas cepas utilizando el sistema automatizado Vitek 2 con la tarjeta AST-GN09 de antibiograma para gramnegativos que incluye los siguientes antibióticos: amikacina, gentamicina, ampicilina/sulbactam, ampicilina, aztreonam, cefazolina, cefepime, cefotetán, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima, acetil-cefuroxima, imipenem, meropenem, ciprofloxacino, levofloxacino, nitrofurantoína, piperacilina, piperacilina/tazobactam, tobramicina y trimetoprim/sulfametoxazol.

Una vez conocidos los perfiles de susceptibilidad de dichas cepas se identificó aquellas posiblemente productoras de BLEE según de las normas establecidas por el Clinical laboratory Standard Institute (CLSI) las cuales fueron publicadas en Enero de 2008, documento M7-A7 (Ver Tabla 1). Dichas normas estandarizan el método de identificación de BLEE en bacterias gramnegativas, se ha establecido en el documento antes mencionado la interpretación de las pruebas de

susceptibilidad bacteriana considerando productoras de BLEE a aquellas bacterias que crezcan a $MIC \geq 4 \mu\text{g/mL}$ de cefpodoxima o $MIC \geq 2 \mu\text{g/mL}$ de ceftazidima, aztreonam, cefotaxima y ceftriaxona, todos incluidos en la tarjeta de Vitek 2 AST-GN09.¹⁹

Se utilizó una hoja de recolección de datos realizada en suite de software Microsoft Office Excel® 2003 para hacer el análisis estadístico. En este análisis se identificó la presencia de cepas de *E. Coli* y *Klebsiella pneumoniae*, por fecha, tipo de muestra, edad, sexo, servicio, concentraciones inhibitorias mínimas, sospecha de producción o no de BLEE y susceptibilidad a otro tipo de antibióticos no betalactámicos.

Resultados

Se aislaron en total 307 cepas de *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, de las cuales 115 correspondieron a hombres y 192 a mujeres. De estas 185 cepas fueron de *E. coli* y 122 cepas de *k. pneumoniae*.

De los 185 aislamientos de *E. coli* 56 (30,2%) se encontraron sospechosas de producir BLEEs y de los 122 pacientes en los cuales se aisló *K. pneumoniae* 54 (44.2%) fueron sospechosas de producir BLEEs. Del total de las 307 cepas aisladas tanto de *E. coli* como de *K. Pneumoniae*, solamente 35.8% se consideraron sospechosas de producir BLEEs, Ver gráfico 2.

E. coli Se asocio con sepsis en 33 ocasiones de las cuales en 15 casos el paciente progreso a la muerte Con una edad promedio fue de 6 años (rango 9 días a 17 años).

Cuando se estableció una distribución por servicio, observamos que las cepas de *E. coli* sospechosa de producir BLEE mostraban la siguiente distribución en orden descendente de frecuencia; UCIP con 10 (5.4%), urgencias e infectología con 9 (5%), UCIN y consulta externa con 7 (3.8%), cirugía, oncología y medicina interna con 4 (2%) y por último neonatología con 3 cepas aisladas (1%), para un total de 30% global de sospecha de producción de BLEE Ver gráfica 3.

En relación al origen de las muestras biológicas fueron las siguientes: Orina 20 (11%), catéter central 11 (6%), secreciones de heridas y/o abscesos 8 (4.4%), sonda urinaria 5 (2.4%), sangre 4 (2%), coprocultivo 4 (2%), cánula orotraqueal 3

(1.6%) y exudado vaginal 1 (0.6%) para un total de 30% de cepas sospechosas productoras de BLEE Ver gráfica 4.

La sensibilidad antibiótica de las cepas de *E. coli* sospechosas de producir BLEE, mostraron resistencia cruzada a trimetoprim en 42 (75%), nitrofurantoína en 9 (16%), amikacina en 3 (5.4%), y resistencia a imipenem y meropenem en 1 cepa cada uno (1.8%) ver tabla 2.

K. pneumoniae se asoció a sepsis y choque séptico en 47 casos y el número de defunciones asociados a aislamiento de esta cepa fue de 16 y, el promedio de edad fue 3 años (rango 15 días a 17 años).

Respecto a su distribución por servicio de *K. pneumoniae* sospechosa de producir BLEE es la siguiente en orden descendente: Oncología con 13 (10.5%), medicina interna con 10 (8%), UCIP con 8 (6.5%), neonatología con 7 (5.7%), UCIN con 6 (5%), infectología con 4 (3.3%) y por último urgencias con 3 (2.5%) y cirugía con 3 (2.5%), para un total de 44% global de sospecha de producción de BLEE Ver gráfica 3.

El sitio de origen de las muestras biológicas fueron las siguientes: Sangre 16% (13%), catéter 8 (6.5%), orina 8 (6.5%), sondas urinarias 8 (6.5%), cánula orotraqueal 4 (3.3%) y coprocultivo 3 (2.5%), para un total de 44% de cepas sospechosas de BLEE Ver gráfico 6.

En cuanto a la susceptibilidad antibiótica de las cepas de *K. pneumoniae* se encontró resistencia cruzada a nitrofurantoína en 27 (51%), amikacina en 13

(24%), trimetoprim/sulfametoxazol 19 (17%), imipenem 2 (3.8%) y meropenem 2 (3.8%) Ver tabla 3.

Discusión

Los resultados de nuestro estudio muestran diferencias sustanciales en relación a la literatura, para *Klebsiella pneumoniae* el 44% de las muestras fueron sospechosas de BLEE y 30% para *E.coli*.. Cuando contrastamos nuestros resultados con la literatura encontramos que dependiendo de las series el porcentaje de cepas de *K. pneumoniae* de BLEE varia del 2.4 al 30% y para *E.coli* del 1.7 a 16.7%, cifras que se encuentran por debajo de los resultados obtenidos en nuestro estudio, y que por supuesto deberán comprobarse por pruebas fenotípicas.^{3,5,7,9,14} Incluso se observó un alarmante aumento en las cepas sospechosas de producción de BLEE en nuestra misma institución en relación a lo publicado en 2005 donde se reporta una prevalencia global del 5.8%, de las cuales 2.5% pertenecían a *K. pneumoniae* y 3.3% a *E. coli*.²¹ Sin embargo en todos los artículos consultados se disponía de métodos confirmatorios para identificación de BLEE, mismos con los cuales lo contamos en nuestra institución.

Otro punto importante a discutir es su asociación con sepsis y choque séptico y la mortalidad, los resultados muestran que existe una alta relación entre la infección por cepas productoras de BLEE y estas patologías. Como resultado esta relación se asocia a mal pronóstico para los pacientes ya que incrementan el riesgo de desarrollar sepsis y/o choque séptico y por lo tanto el riesgo de muerte.

Las infecciones por BLEE, incrementan el tiempo de estancia hospitalaria y en consecuencia los costos por hospitalización, tal como reportan Castañeda A. en su investigación realizada en el Centro Médico Nacional Siglo XXI.¹⁷ Además Álvarez y cols reportan un costo global de atención para nuestra institución por infecciones nosocomiales de \$195 581 dólares estadounidenses en un periodo de 4 meses, reportando un costo de \$ 2 062 dólares estadounidenses por cada episodio de infección nosocomial.²⁴ Sin embargo no reportan los agentes causales de dichas infecciones.

Por último cabe resaltar los hallazgos encontrados en cuanto a la resistencia antibiótica cruzada donde se observó una alta resistencia cruzada a trimetoprim/sulfametoxazol en el caso de *E. coli* y una alta resistencia cruzada a nitrofurantoína y amikacina para *K. pneumoniae*, semejante a lo reportado en la bibliografía. Es importante destacar la sensibilidad de las cepas de *E. coli* sospechosas de producir BLEE a nitrofurantoína con solamente 16% de resistencia cruzada así como la sensibilidad a amikacina con resistencia cruzada del 5.4. Lo que convierte en alternativas en el tratamiento de este tipo de bacterias susceptibles a nitrofurantoína y amikacina. En cuanto a *K. pneumoniae* sospechosa de BLEE se observa sensibilidad a trimetoprim/sulfametoxazol con solamente 16% de resistencia cruzada, por lo tanto dicho antibiótico resulta útil y una alternativa quizás poco considerada para el tratamiento de infecciones no complicadas por dichas bacterias.

Por otra parte resulta importante mencionar que en infecciones graves adquiridas en el hospital por bacterias productoras de BLEE, las opciones terapéuticas se

reducen en orden de importancia a carbapenemicos y después a piperacilina tazobactam.

Conclusiones

Hemos encontrado una alta incidencia de cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* sospechosas de producir BLEE, sin embargo por limitantes en cuanto a recursos no hemos sido capaces de realizar pruebas fenotípicas confirmatorias para identificar la producción de BLEE en las cepas estudiadas.

Se ha encontrado mayor número de aislamientos de cepas sospechosas de producir BLEE en servicios como oncología, el cual tiene la particularidad de que el tipo de pacientes tratados son por lo general pacientes inmunodeprimidos o suprimidos por consecuencia de los tratamientos administrados, se ha encontrado también un número alto de aislamientos en terapia intensiva pediátrica y neonatal, lo cual nos hace inferir que la infección por especies de *K. pneumoniae* y *E. coli* sospechosas de ser productoras de BLEE puede encontrarse relacionada con el estado inmunológico del paciente y del número de dispositivos invasivos que esté presente en cada paciente.

Otro punto importante a destacar es el patrón de resistencia cruzada que hemos encontrado en las cepas estudiadas, donde resalta la relativamente baja resistencia de *E. coli* sospechosa de producir BLEE a amikacina y la altísima resistencia cruzada a trimetoprim/sulfametoxazol por lo que consideramos deberá de ser descartado en el tratamiento de infecciones por *E. coli* sospechosa de producir BLEE; llama la atención en el grupo de *E. coli* estudiado la presencia de cepas resistentes a imipenem y a meropenem, las cuales muy seguramente presentan, además de la producción de BLEE

implican otros mecanismos de resistencia,. En cuanto al grupo de especies de *K. pneumoniae* sospechosas de producir BLEE identificadas en este estudio es importante destacar la resistencia relativamente baja a trimetoprim/sulfametoxazol lo cual convierte a este agente antibacteriano en una herramienta útil en el tratamiento de las infecciones causadas por estos agentes en infecciones no complicadas, por otro lado resulta alarmante la presencia de cepas resistentes a agentes carbapenémicos las cuales muy probablemente presenten más de un mecanismo de resistencia bacteriana.

Como conclusión final los recursos en nuestro hospital actualmente se encuentran limitados para realizar identificación fenotípica de cepas productoras de BLEE por lo que deberemos de realizar lectura interpretativa del antibiograma reportado, para tomar decisiones terapéuticas acertadas, disminuyendo el tiempo de estancia hospitalaria y los costos por hospitalización. Por otro lado pienso deberemos de realizar nuevas investigaciones para confirmar los hallazgos encontrados en nuestra investigación y deberemos mantener vigilancia constante en cuanto a la epidemiología microbiológica de nuestra institución.

Bibliografía

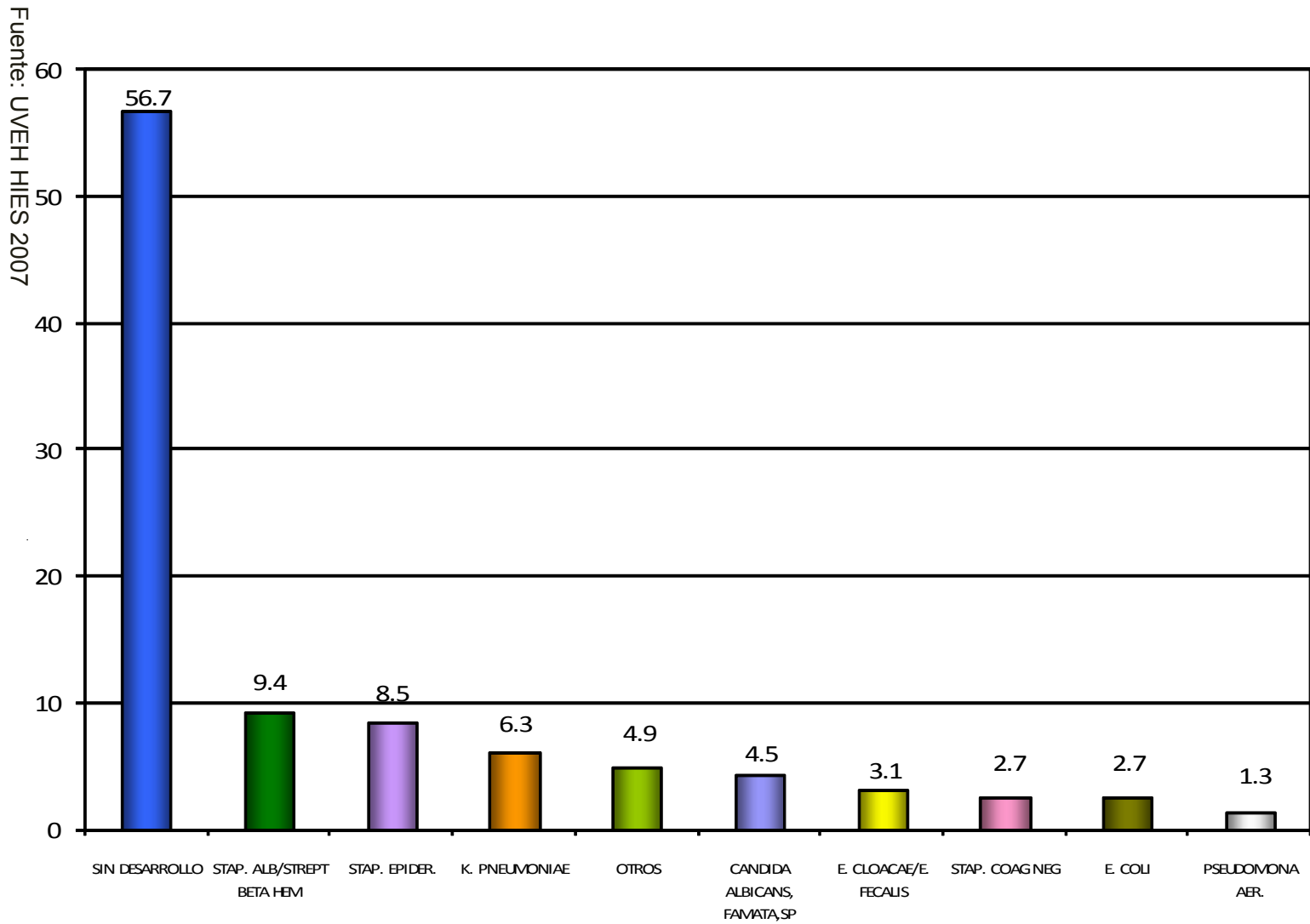
1. García-Rodríguez J.A. Historia de la antibioterapia, Barcelona, Ed. Doyma, 1997.
2. Cantón R. et al. IRT and CMT b-lactamases and inhibitor resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008.
3. Hernández José Ramón, et al *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000), *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2003.
4. Mesa R. J. et al. Extended-spectrum b-lactamase-producing enterobacteriaceae in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2006.
5. L. Romero, et al. Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum b-lactamases. *Clinical Microbiology and Infection* 2005.
6. Mitchell J. Schwaber, et al Utility of NCCLS Guidelines for Identifying Extended-Spectrum B-Lactamases in Non-*Escherichia coli* and Non-*Klebsiella* spp. of Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, Jan. 2004.
7. Sánchez Liliana, Ríos Rodrigo, Máttar Salim, Detección de beta-lactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* aislados en una clínica de Villavicencio, Colombia. *Infectio*, 2008.

8. Peña C. et al Risk-factors for acquisition of extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli* among hospitalised patients *Clinical Microbiology and Infection*, 2006.
9. Manandhar T. Status of extended spectrum beta lactamase producing *Escherichia Coli* and *Klebsiella* species in urinary tract infection, *Journal of Institute of Medicine*, 2006.
10. Sánchez U. M. Et al. Transferencia de B-Lactamasas de espectro extendido desde cepas hospitalarias de *Klebisella pneumoniae* a otras especies de enterobacterias. *Revista Médica de Chile* 2006.
11. Yagüe A. et al. Evaluación de un método rápido para la detección de betalactamasas de espectro extendido mediante una cefalosporina cromogénica *Revista Española de Quimioterapia*, Junio 2006.
12. Martínez Ramos, et al. Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería, *MedUNAB* 2005.
13. Mantilla José R. Et al. Caracterización molecular de un brote por *Klebisella pneumoniae* productora de CTX-M-12 en la unidad de cuidado intensivo neonatal de un hospital colombiano. *Biomédica*. 2006.
14. Cantón R. Et al, Prevalence and spread of extended-spectrum B-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe, *Clinical Microbiology and Infection* 2008

15. Peterson L.R. Antibiotic policy and prescribing strategies for therapy of extended-spectrum B-lactamase-producing Enterobacteriaceae: the role of piperacillin–tazobactam. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008.
16. Pujol M., Piña C., El significado clínico de las betalactamasas de espectro extendido, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2003.
17. Díaz P., et al Resistencia a gentamicina, amikacina y ciprofloxacina en cepas hospitalarias de *Klebsiella pneumoniae* subespecie *pneumoniae* productoras de B-lactamasas de espectro extendido. *Revista Médica de Chile*. 2004.
18. Pliego A., et al. Bacterias multirresistentes más comunes en un hospital oncológico. *Revista Médica IMSS*, 2004.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement, Document M7-A7, 2008.
20. Rodríguez-Baño J., Navarro M.D. Extended-spectrum B-Lactamases in ambulatory care: a clinical perspective, *Clinical Microbiology and Infection* 2008.
21. Navarro, et al. Detección de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en el Hospital Infantil del Estado de Sonora. *Boletín Clínico HIES*, 2005.

22. Thomson K. S. et al. Comparison of Phoenix and VITEK 2 Extended-Spectrum Beta-Lactamase Detection Tests for Analysis of *Escherichia coli* and *Klebsiella* Isolates with Well-Characterized Beta-Lactamases. *Journal Of Clinical Microbiology*, August, 2007.
23. Treviño M. et al. Comparación entre las pruebas para la detección de betalactamasas de espectro extendido de los sistemas Vitek-2 y Phoenix. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Febrero, 2009.
24. Álvarez H. G., Amaro O. C. Costos atribuibles y factores de riesgo de infección nosocomial en un hospital pediátrico del estado de Sonora, 2008. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. Marzo-Abril, 2010.

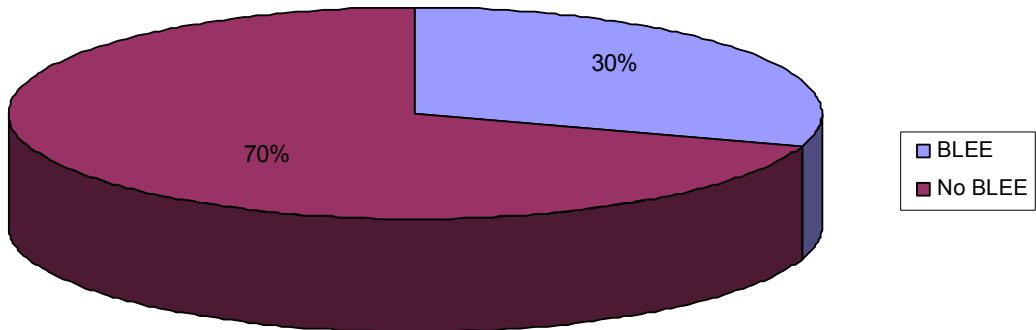
Distribución de hemocultivos según resultado bacteriológico en infecciones nosocomiales.
HIES-HIMES, 2007



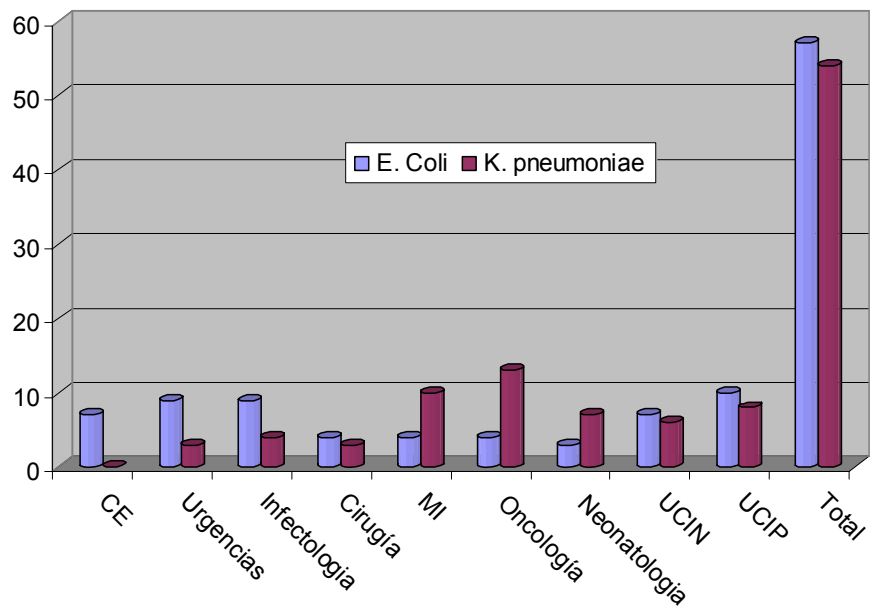
Gráfica 1

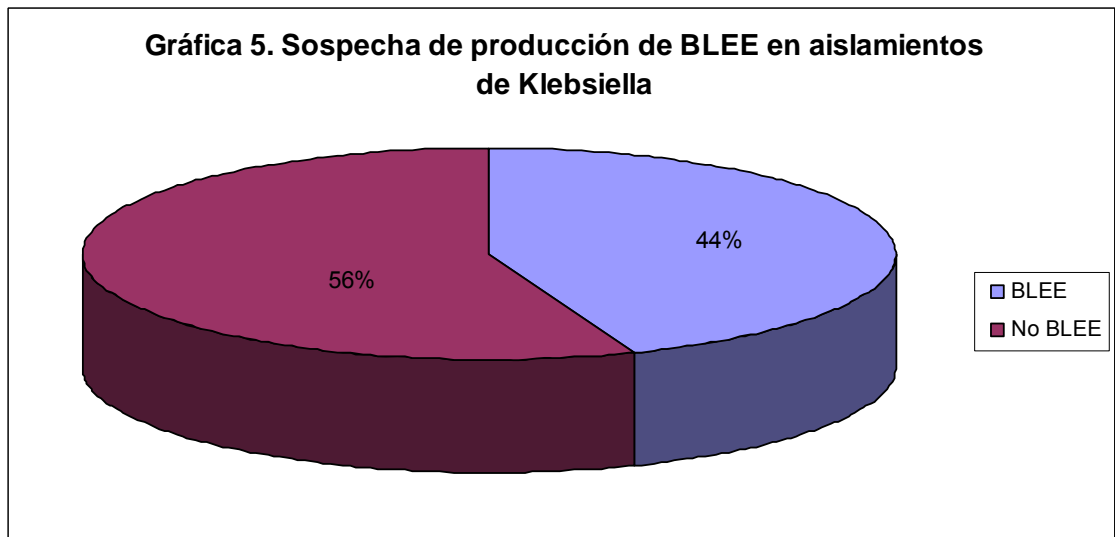
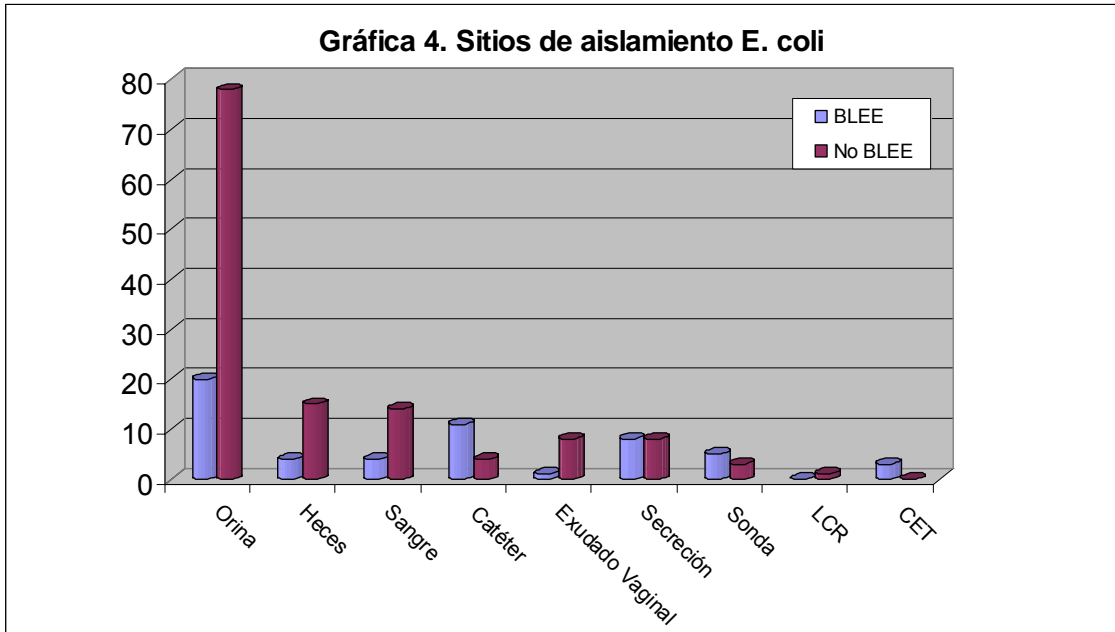
Anexos

Gráfica 2. Sospecha de producción de BLEE en E. coli



Gráfica 3. Cepas sospechadas de producción de BLEE en el HIES





Gráfica 6. Sitio de aislamiento Klebsiella

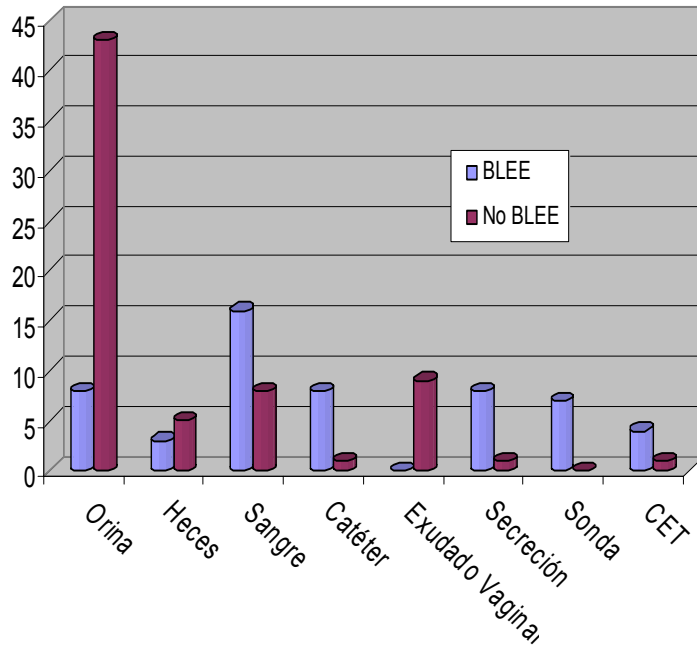


Tabla 1. Identificación de fenotipo sospechoso de BLEE		
Prueba	Prueba Inicial de Tamizaje	
Metodo de Prueba	Difusión de Disco	Microdilución en caldo
Medio	Agar Mueller-Hinton	CAMHB ^a
Concentración de Antibiótico	Para <i>K.pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> : Cefpodoxime 10µg ó Ceftazidima 30µg ó Aztreonam 30µg ó Cefotaxima 30µg ó Ceftriaxona 30µg ó (el uso de mas de un antibiótico incremetará la sensibilidad de la prueba)	Para <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> : Cefpodoxime 4µg/ml ó Ceftazidima 1µg/ml ó Aztreonam 1µg/ml ó Cefotaxima 1µg/ml ó Ceftriaxona 1µg/ml ó (el uso de mas de un antibiótico incremetará la sensibilidad de la prueba)
Inóculo	Recomendaciones standard	Recomendaciones standard
Condiciones de incubación	35 ± 2 °C; temp. ambiente	35 ± 2 °C; temp. ambiente
Incubación por:	16-18 hrs	16-20 hrs
Resultados para considerarse sospechosa de producir BLEE	Para <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> Zona de inhibición para: Cefpodoxime ≤ 17mm Ceftazidima ≤ 22mm Aztreonam ≤ 22mm Cefotaxima ≤ 27mm Ceftriaxona ≤ 25mm	Para <i>K. pneumoniae</i> y <i>E. coli</i> el crecimiento sobre las siguientes concentraciones: Cefpodoxime ≥ 8 µg/ml Ceftazidima ≥ 2 µg/ml Cefotaxima ≥ 2 µg/ml Ceftriaxona ≥ 2 µg/ml

Modificado de: Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement, document M7-A7, January 2008.

Tabla 2. Resistencia Cruzada de <i>E. coli</i> sospechosa de producción de BLEE		
Amikacina	3	5.4%
Imipenem	1	1.8%
Meropenem	1	1.8%
Nitrofurantóina	9	16%
TMP/SMZ	42	75%
Total	56	100%

Tabla 3. Resistencia Cruzada de <i>K. pneumoniae</i> sospechosa de producción de BLEE		
Amikacina	13	24.4%
Imipenem	2	3.8%
Meropenem	2	3.8%
Nitrofurantóina	27	51%
TMP/SMZ	9	17%
Total	53	100%