

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DR. DANIEL MÉNDEZ HERNÁNDEZ.

PREVALENCIA DE INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS CAUSADAS POR
ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE β - LACTAMASAS DE ESPECTRO
EXTENDIDO.

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD DE INFECTOLOGÍA

PRESENTA:

ROBERTO PERALTA JUÁREZ.

ASESOR:

MC. ELENA URDEZ HERNÁNDEZ.

Q.B.P. LOURDES OSORIO CARRANZA.



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.

Investigador principal:

MC. Elena Urdez Hernández.

Médico Internista e infectólogo del Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández del Centro Médico Nacional la Raza (HICMNR).

Investigadores asociados:

Roberto Peralta Juárez.

Médico internista y residente del segundo año de infectología del HICMNR.

Q.B.P. Lourdes Osorio Carranza.

Jefe de la sección de bacteriología sanitaria del HICMNR.

Q.B.P. Gregorio Chacón Avilés.

Químico adscrito a bacteriología sanitaria del HICMNR.

Número de protocolo: 03-16-01-04

Dr. Manuel Pacheco Ruelas.
Director médico del Hospital de Infectología.
Centro Médico Nacional La Raza.

Dra. Verónica A. Gaona Flores
Jefatura de educación e investigación en salud
Hospital de Infectología del CMNR.

MC. Elena Urdez Hernández.
Titular del curso de infectología y asesora de tesis
Hospital de Infectología CMNR.

Roberto Peralta Juárez.
Médico residente de infectología.

Índice.

	Página
Resumen.....	5
Antecedentes.....	9
Justificación y planteamiento del problema.....	12
Objetivo.....	13
Pacientes y métodos.....	14
Análisis estadístico.....	24
Resultados.....	25
Discusión y conclusiones.....	31
Bibliografía.....	35
Anexos.....	41

Prevalencia de infecciones intrahospitalarias causadas por Enterobacterias productoras de β - lactamasas de espectro extendido.

Objetivo general: Determinar la prevalencia de infecciones nosocomiales causadas por enterobacterias generadoras de β - lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Lugar de estudio: Hospital de Infectología, Centro Médico La Raza, IMSS, Ciudad de México.

Pacientes y métodos: De octubre del 2003 a enero del 2004 se estudiaron pacientes con infecciones causadas por enterobacterias productoras de BLEE. Se incluyeron individuos adultos (edad \geq a 16 años), con infecciones nosocomiales definidas de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, en quienes se investigaron los padecimientos subyacentes, motivo de hospitalización, estancia hospitalaria y uso previo de antimicrobianos. Las enterobacterias fueron identificadas mediante el sistema Vitek. Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y la detección de BLEE se evaluaron mediante la prueba E con ceftazidima y cefotaxima.

Resultados: Durante 4 meses se detectaron 105 episodios de infecciones nosocomiales de las cuáles 19 correspondientes a 11 pacientes, fueron causadas por enterobacterias. Entre los enfermos: seis fueron hombres de 60 años o más; siete, diabéticos; todos habían recibido cefalosporinas previamente; siete, fueron hospitalizados por fascitis necrosante; nueve, tuvieron una estancia hospitalaria \geq a 14 días . Las enterobacterias: representaron el 18% de los microorganismos causales de IIH (19/105), 11 identificadas como *Escherichia coli* y 4 como *Klebsiella pneumoniae*, de las cuales, 12 fueron identificadas como productoras de BLEE. La

prevalencia de *E.coli* y *K. pneumoniae* presuntamente productoras de BLEE fue 11.4% (12/105). Todos los aislados fueron sensibles a imipenem y sólo 3, a ciprofloxacino y cefatizidima.

Conclusiones: La prevalencia de infecciones nosocomiales causadas por *E. Coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE es elevada. Por lo tanto, la detección oportuna de tal fenotipo en los aislados clínicos es necesaria para propiciar el uso racional de los antimicrobianos.

Prevalence of nosocomial infections caused by extended spectrum- β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*.

Objective: To determine the prevalence of nosocomial infections caused by extended spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*.

Setting: Infectious Diseases Hospital National Medical Center La Raza, Mexico City

Patients and methods: From October 2003 to January 2004, inpatients with nosocomial infection caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* were studied. We included adults (≥ 16 years old) with nosocomial infections, defined according to Norma Oficial Mexicana. Comorbid conditions, hospitalization cause, prior antibiotic use and hospital stay were recorded. *Enterobacteriaceae* were identified by Vitek system. Antibiotic susceptibility and β -lactamase production were performed by E-test with ceftazidime and cefotaxime.

Results: Among 105 episodes of nosocomial infections identified during 4 months, 19 were caused by *Enterobacteriaceae*, in 11 patients. Six were male patients older than 60 years old; seven had diabetes mellitus; all individuals had used cephalosporins previously; seven, were hospitalized by necrotizing fasciitis; Nine, had hospital stay ≥ 14 dias. Among 19 *Enterobacteriaceae*, 11 were identified as *E.coli* and 4 as *K. pneumoniae* (15/19) of which 12, were presumptively β -lactamase producers giving a prevalence of 11.4% (12/105) for this

phenotype. All isolates were susceptible to imipenem, but only 3, to ciprofloxacin and ceftazidime.

Conclusion: The prevalence of nosocomial infections caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* is high. Then, it is necessary the prompt detection of such phenotype in clinical isolates to support a rational antibiotic use.

ANTECEDENTES

Durante las dos últimas décadas se han reportado mundialmente varios brotes de infecciones causadas por microorganismos productores de β - lactamasas de espectro extendido (BLEE).^(1, 2) Este fenotipo de resistencia a β - lactámicos existe entre todos los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*; sin embargo *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* han sido los más estudiados, con prevalencia variable de 0 a 48%.⁽³⁾ Entre los factores de riesgo específicos para adquirir infecciones por enterobacterias productoras de BLEE se encuentran los siguientes: Estancia hospitalaria prolongada, severidad de la enfermedad, permanencia en unidad de cuidados intensivos, procedimientos invasivos, asistencia mecánica ventilatoria, dispositivos externos y la exposición previa a antibióticos⁽⁴⁾, ya que se ha observado relación directa entre la emergencia de dichas infecciones y el uso intrahospitalario de cefotaxima y ceftazidima.^(5, 6)

Las enterobacterias productoras de BLEE pueden ser reportadas sensibles a cefalosporinas de amplio espectro, por lo que se esperaría que las infecciones por estos microorganismos tuvieran una respuesta adecuada al emplearlos, sin embargo existe falla terapéutica en 54 % (15/ 28) de los pacientes con tasas de mortalidad que oscilan entre 42 a 100%.^(3,7) Desde el punto de vista clínico es fundamental detectarlas y que sean reportadas como resistentes a todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam.⁽⁸⁾

Las BLEE se caracterizan por lo siguiente: Son mutantes derivadas de las familias de enzimas TEM (Temoniera), SHV (variable sulfidrido) y OXA (oxacilina);^(9, 10,11) las dos primeras son más frecuentes. Usualmente se codifican en plásmidos.^(12,13, 14) Tienen substituido uno o más aminoácidos lo que se traduce en alteración de su configuración aumentando el espectro del substrato. Hidrolizan tanto a monobactámicos (aztreonam) como a cefalosporinas de amplio espectro que contienen cadenas laterales oximino (ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima).

⁽¹⁵⁾ In vitro, dichas enzimas se inhiben con ácido clavulánico. ⁽⁸⁾ Finalmente la prevalencia del tipo de enzima varía según las áreas geográficas; así se ha descrito que en América Latina las enzimas prevalentes tienen mayor actividad para cefotaxima que para ceftazidima. ⁽¹⁶⁾

Desde el punto de vista bacteriológico, la presencia de β – lactamasas de espectro extendido en el laboratorio se pueden identificar tanto fenotípica como genotípicamente. Los métodos fenotípicos son los siguientes: Difusión en agar, microdilución, tridimensional, automatizado (Vitek) e isoelectroenfoque. Los dos primeros pueden realizarse en todo laboratorio de microbiología clínica donde se efectúen pruebas de susceptibilidad, pues se fundamentan en observar un mayor efecto sobre el microorganismo con la combinación de β – lactámico / ácido clavulánico, que el evidente con el β – lactámico solo. El método de difusión es el más común por lo siguiente: Tiene una sensibilidad del 79 %, la cual se puede incrementar cuando la distancia interdisco se reduce de 30 a 20 mm, es fácil de realizar y tiene bajo costo. ⁽¹⁷⁾ El método de microdilución es muy laborioso por lo que la prueba E se ha propuesto como alternativa. Esta prueba permite combinar la microdilución con la difusión en agar; sin embargo su sensibilidad es controversial. ^(18, 19, 20,21) Los tres últimos métodos son más sensibles pero menos factibles. Los métodos genotípicos definen el tipo específico de BLEE pero no determinan su estado funcional. Entre los más utilizados se encuentran, el perfil de plásmidos, electroforesis en campos pulsados, ribotipificación, reacción en cadena de la polimerasa y amplificación al azar de ADN polimórfico. Todos son muy laboriosos y de alto costo, por lo que no son métodos accesibles para uso rutinario. ⁽³⁾

| Las enterobacterias productoras de BLEE parecen ser frecuentes en Latino América pues se reportan prevalencias de 45 % y 8.5 % para *Klebsiella pneumoniae* y *E coli*, respectivamente. ⁽²²⁾ En Argentina, un 9 % (39 / 427) de las enterobacterias han sido productoras de BLEE. Si bien, *E coli* y *K pneumoniae* comprendieron el 37 %, el resto estuvo

representado por otros 6 miembros de la familia *Enterobacteriaceae*.⁽²³⁾ En México, el conocimiento de enterobacterias productoras de BLEE es escaso y data de los 90's; sin embargo, recientemente se ha informado un brote surgido en una unidad de cuidados intensivos neonatal causada por *K pneumoniae* productora de BLEE tipo SHV- 5.^(24,25)

Por todo lo anterior, se consideró ideal que la detección de las infecciones causadas por microorganismos productores de BLEE forme parte del sistema de vigilancia epidemiológica de este hospital, de donde surgió el presente estudio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el ámbito mundial, se ha reportado incremento gradual de las infecciones causadas por enterobacterias productoras de BLEE, lo cual se considera favorecido no sólo por la ubicuidad de la familia *Enterobacteriaceae*, sino también por la presión selectiva del uso frecuente de cefalosporinas de amplio espectro y por la aplicación irregular de las medidas para control de las infecciones. ^(1,2) En el HICMNR, la presencia de enterobacterias con tal fenotipo de resistencia es probable, por lo siguiente: primero, las enterobacterias representan el 35 % de las infecciones intrahospitalarias (55/ 157) y el 53 % (55/ 103) de las causadas por Gram negativos (Epidemiología hospitalaria HICMNR, 2003). Segundo, un 31 % (28073 unidades / 90885 unidades) de los antibióticos intravenosos utilizados son cefalosporinas de tercera y cuarta generación (oficina de abastecimientos del HICMNR, 2003). Por tanto, consideramos que el conocer la prevalencia de las infecciones causadas por enterobacterias productoras de BLEE tendría las siguientes ventajas:

- a.- Clínica, pues dichas bacterias deben reportarse como resistentes a todas las cefalosporinas, independientemente del patrón de susceptibilidad dado las fallas terapéuticas que surgen, aún cuando los organismos sean sensibles en el antibiograma. ⁽⁸⁾
- b.- Epidemiológica, ya que la presencia de tales infecciones debe vigilarse ante el riesgo de un brote, propiciado por la fácil transferencia de los plásmidos codificadores de BLEE, aún dentro del mismo hospedero. ⁽¹²⁾

OBJETIVO

Determinar la prevalencia de infecciones nosocomiales causadas por enterobacterias productoras de β - lactamasas de espectro extendido en pacientes atendidos en el HICMNR.

PACIENTES Y MÉTODOS:

Se llevó a cabo el estudio en forma prospectiva, transversal, observacional y descriptiva en el departamento clínico de adultos y laboratorio de microbiología del HICMNR, en el período de octubre del 2003 a enero del 2004. Se incluyeron a individuos de ≥ 16 años de edad, con infecciones intrahospitalarias causadas por bacterias Gram negativas, que aceptaron participar en el proyecto, eliminándose aquellos cuya información clínica o epidemiológica se perdió. Las fuentes de información con que contamos fueron la historia clínica dirigida y el expediente clínico. Los instrumentos empleados fueron: cuestionario, microscopio de luz, autoclave, cajas de Petri, medios de cultivo, sensidiscos, tiras para prueba E (Merck & Co., Inc ®), sistema automatizado Vitek ®.

De las siguientes variables se estableció: Definición (D), operacionalización (O), escala de medición (E) e indicador (I). ^(28,29)

Infección causada por enterobacterias que producen β -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

D: Síndrome clínico causado por la invasión de miembros de la familia *Enterobacteriaceae* caracterizada por fiebre, leucocitosis y datos de localización del proceso, los cuales producen BLEE, como expresión de resistencia a β lactámicos

O: Bacteremia: Infección por bacterias en el torrente sanguíneo. El diagnóstico se establece en un paciente con fiebre, hipotermia o distermia con hemocultivo positivo en ausencia de focalización infecciosa. Este diagnóstico también puede darse aún en pacientes con menos de 48 horas de estancia hospitalaria si se les realizan procedimientos invasivos o reciben terapia intravascular. Un hemocultivo positivo para gramnegativos es suficiente para hacer el diagnóstico, si no se demuestra lo contrario.

Neumonía: Inflamación del parénquima pulmonar que incluye consolidación con una sustitución por edema e infiltrado de los alvéolos pulmonares. Cuatro criterios hacen el diagnóstico: Fiebre, hipotermia o distermia; tos, esputo purulento o drenaje purulento a través de cánula endotraqueal que al examen microscópico (en seco débil) muestra < 10 células epiteliales y > 20 leucocitos por campo 10 x; signos clínicos de infección de vías aéreas inferiores, radiografía de tórax compatible con neumonía e identificación de microorganismo patógeno en esputo o secreción endotraqueal.

Infección de vías urinarias (IVU): Amplia variedad de condiciones clínicas desde la bacteriuria asintomática hasta la pielonefritis aguda con sepsis.

IVU sintomáticas: Con tres o más de los siguientes criterios se establecerá el diagnóstico independientemente del resultado de urocultivo: Dolor en flancos, percusión dolorosa del ángulo costovertebral, dolor suprapúbico, disuria, sensación de quemadura, urgencia miccional, polaquiuria, calosfrío, fiebre o distermia, orina turbia. La etiología se puede apoyar por los siguientes hallazgos. En chorro medio y cateterismo una cuenta mayor a 50,000 UFC/ ml; en muestra obtenida por punción suprapúbica cualquier desarrollo es diagnóstico. El aislamiento de un nuevo microorganismo en urocultivo es diagnóstico un nuevo episodio de infección urinaria.

IVU asintomáticas: Con y sin sonda Foley se requiere evidenciar actividad inflamatoria con 10 o más leucocitos por campo en el sedimento urinario. Se considera infección relacionada a sonda Foley cuando el urocultivo basal es negativo y un segundo evidencia más de 50,000 UFC/ ml.

Infección de tejidos blandos: Afección localizada en piel, tejido subcutáneo, fascia o hasta músculo caracterizada por dolor localizado, hiperemia, inflamación, calor y salida de material purulento. Tres o más de los siguientes criterios deben existir: Dolor localizado, espontáneo o a la palpación, inflamación, calor, rubor, crepitación, necrosis de tejidos, trayectos linfangíticos,

organismo aislado del sitio afectado, drenaje purulento, absceso o evidencia de infección durante la cirugía o por examen histopatológico.

Infección de sitio de inserción intravascular: Reacción inflamatoria infecciosa en sitio de inserción de catéter con dos o más de los siguientes criterios.: calor, edema, rubor, y dolor, drenaje purulento del sitio de entrada del catéter, Gram del material purulento positivo y /o cultivo positivo.

E: Nominal.

I: Bacteremia, neumonía, IVU, infección de tejidos blandos infección de inserción intravascular.

Producción de BLEE. ⁽⁸⁾

D: Incremento en la sensibilidad de un microorganismo al comparar el efecto de las cefalosporinas de amplio espectro con y sin ácido clavulánico.

O: Prueba positiva: Difusión en agar ≥ 5 mm en el diámetro de inhibición con la combinación de cefalosporina + ácido clavulánico. Microdilución: Reducción ≥ 3 veces la concentración mínima inhibitoria con cefalosporina + ácido clavulánico. ⁽⁸⁾

E: Nominal.

I: Positivo, negativo.

Edad.

D: Tiempo de vida transcurrido desde el nacimiento.

O: Interrogatorio / expediente clínico.

E: Razón.

I: Años cumplidos.

Género.

D: Fenotipo determinado por el cromosoma Y, reconocido socialmente.

O: Exploración física.

E: Nominal.

I: Masculino, femenino.

Enfermedad subyacente.

D: Cualquier patología presente diferente a infecciones.

O: Interrogatorio.

E: Nominal.

I: Diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica, insuficiencia cardíaca, cardiopatía isquémica, obesidad.

Estancia hospitalaria:

D: Período transcurrido entre el ingreso y el egreso hospitalario.

O: Expediente clínico.

E: Razón.

I: Número de días.

Infección nosocomial: ^(28, 29)

D: Condición localizada o generalizada resultante de la reacción adversa a la presencia de un agente infeccioso o su toxina y que no estaba presente o en el período de incubación en el momento del ingreso del paciente al hospital. Ocurren generalmente desde las 48 horas hasta las 72 horas del ingreso del paciente al hospital, o en el que hay evidencia suficiente para definir el evento infeccioso como inherente al padecimiento base.

O:

Definidas previamente

Neumonía.

Infección de vías urinarias.

Bacteremia.

Infección de tejidos blandos

Infección en sitio de inserción intravascular.

E: Nominal

I: Neumonía, IVU, bacteremia, infección de tejidos blandos, infección en sitio de inserción intravascular.

Uso previo de antibióticos:

D: Período durante el cual se han recibido antibióticos comprendido desde el inicio del padecimiento hasta que se establece el diagnóstico bacteriológico.

O: Interrogatorio / Expediente clínico.

E: Razón.

I: Días.

Antibióticos de uso actual:

D: Tipo de antibióticos recibidos por el paciente durante las 48 horas antes de obtener una muestra en la que se establece el diagnóstico etiológico.

O: Penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos, carbapenems, quinolonas, trimetoprim con sulfametoxazol, metronidazol.

E: Razón.

I: Sí, no

Las muestras clínicas se obtuvieron de: ⁽³⁰⁾

Hemocultivos: Se obtuvieron mínimo dos en sitios diferentes idealmente durante la bacteremia la cual puede preceder 30 a 90 minutos a la fiebre pero desde el punto de vista práctico será difícil predecir este momento por lo que se obtuvieron durante la fiebre o hipotermia. Si se sospechó bacteremia relacionada a catéter se tomó uno transcatéter. Se requirió un volumen de a 5 a 10 ml.

Biopsias de tejido: Si la herida o tejido presentaba material purulento y /o tejido necrótico se realizó lavado enérgico y /o desbridación del área cruenta. Se colocó 1 cm² de tejido involucrado en un tubo con medio Stuart o solución salina estéril.

Orina con sonda Foley permanente: Se limpió el segmento del catéter urinario proximal a la conexión con el tubo de drenaje con isodine al 1% o alcohol al 70% y se pinzó el tubo de drenaje, con una jeringa se puncionó en ángulo de 45° en forma oblicua, evitando la punción del conducto de agua, se obtuvieron 12 ml de orina y se colectó en un frasco estéril. Esta muestra incluyó un estudio de sedimento urinario.

Aspirado endotraqueal: Se efectuó percusión del tórax durante 10 minutos para facilitar la obtención. Se realizó con técnica estéril, catéter de aspiración de 12 F y un recipiente colector estéril. El catéter se introdujo a la cánula endotraqueal al menos 30 cm, el primer aspirado se descartó y el segundo se colectó (al menos 1 ml).

Todas las muestras se enviaron de inmediato al laboratorio.

El procesamiento se llevó a cabo de acuerdo a la siguiente descripción: (Ver anexo 2)

Las muestras obtenidas se observaron microscópicamente para diagnóstico preliminar, se inocularon en medios primarios, con un período de incubación de 24 a 48 horas, reconociéndose los microorganismos Gram negativos con base en tinción de Gram, morfología colonial y medio primario donde se inoculó.

Identificación de microorganismos: Sistema automatizado Vitek.

Pruebas de susceptibilidad: Difusión en agar, microdilución (prueba E).^{(8, 20) XX}

Difusión en agar:

Procedimiento: Se realizaron con base a lo establecido en las guías del NCCLS®.⁽⁸⁾

Medio: Se utilizó al agar Mueller Hinton porque muestra una reproducibilidad aceptable, tiene baja cantidad de inhibidores, proporciona un crecimiento satisfactorio de los microorganismos no fastidiosos.

Preparación del inóculo: Se seleccionó de 3 a 5 colonias de un cultivo fresco (18 a 24 horas de incubación) de la misma morfología y bien aisladas. Se transfirieron a un tubo que contenía de 4 a 5 ml de caldo soya tripticasa, se incubó a 35° C durante 2 a 6 horas. Posterior a esto se colocó solución salina al 0.9% estéril hasta lograr una turbidez comparable con el estándar 0.5 de Macfarlán. Esto equivale a $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC / ml para *E coli* ATCC ® 25922.

Aplicación del inóculo: Primero el hisopo se humedeció y se liberó del exceso del caldo presionándolo giratoriamente sobre la pared interna del tubo por arriba del nivel del caldo. Segundo, en una placa de agar Mueller Hinton se realizó el sembrado uniforme al menos en tres direcciones, y al final, se pasó el hisopo sobre el reborde del agar.

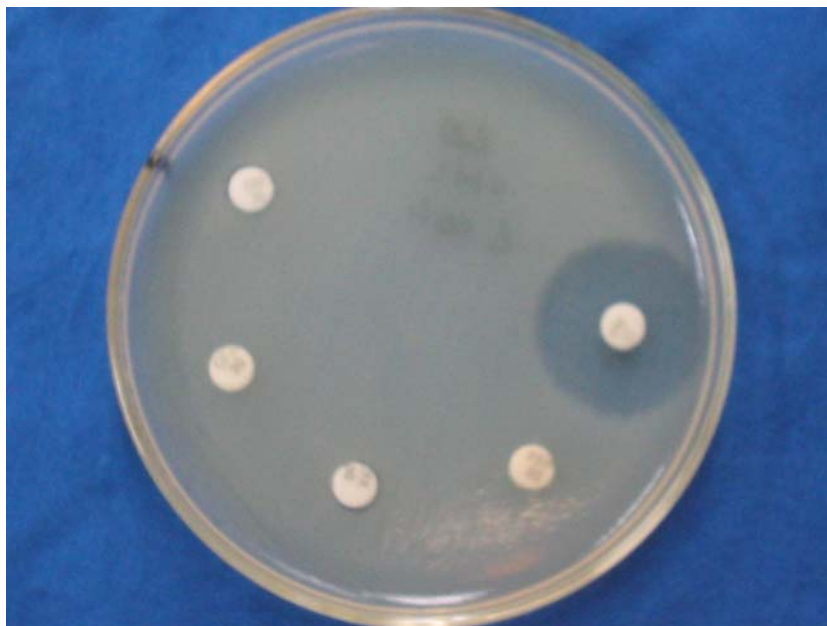
Colocación de discos: Diez minutos después de inocular la placa se colocaron los sensidiscos previamente equilibrados a la temperatura ambiente, con las siguientes observaciones: Distancia interdisco de 24 mm. (Ceftazidima 30 mg, cefotaxima 30 mg, ceftriaxona 30 mg, cefepime 30 mg, imipenem 10 mg); distribución uniforme, para prevenir una sobreposición de las zonas de inhibición y separación del borde de la caja. Se incluyeron las cepas de referencia para control de calidad. (Figura 1)

Incubación: Se incubaron 15 minutos después de colocar los discos, dejándose la caja invertida durante 16 a 18 horas a 35 ° C.

Lectura: Se midieron los halos de inhibición en mm con Vernier, por el fondo de la caja.

Interpretación: Se basaron en los criterios del NCCLS. Con una interpretación categórica: (S) Susceptible, (I) Intermedio, (R) Resistente.

Figura 1. Placa de agar Mueller Hinton con sembrado uniforme de cepa aislada y con sensidiscos mostrando halo de inhibición de desarrollo bacteriano.



Prueba E:

Las condiciones del medio y de los antibióticos, manejo del inóculo, temperatura, incubación y control de calidad son similares al método previo.

Característica de las tiras:

Antibióticos: Imipenem, ceftazidime, piperacilina /tazobactam, ceftriaxona, gentamicina, ciprofloxacino, amikacina, cefepime, cefotaxima, piperacilina, trimetoprim con sulfametoxazol.

Las concentraciones de estos antibióticos tienen un gradiente que va de 0.06 a 256 mg/ L; se encuentran en la cara contraria a la escala de la tira, con la marca E en el extremo de mayor concentración,

Aplicación de las tiras: El manejo fue cuidadoso. Se tomaron por el extremo marcado con la letra E, dirigiendo la mayor concentración hacia el borde de la caja. Posteriormente se permitió que el extremo de menor concentración toque gradualmente la superficie del agar. Después se removió

las burbujas atrapadas mediante la presión sobre la tira con una pinza partiendo de menor a mayor concentración. Se colocaron 6 tiras por caja en forma radiada y equidistante.

Lectura: Sólo se realizó cuando el desarrollo bacteriano fue confluyente. La concentración mínima inhibitoria (CMI) correspondió a la señalada por el punto de intersección entre el crecimiento bacteriano y el borde de la tira E. Si no hay inhibición, la CMI correspondió a la máxima concentración de la tira, y si dicha inhibición se encontraba entre dos concentraciones, la CMI se tomó la de mayor valor. Figura 2.

Interpretación: Con control de calidad aceptable, las microdiluciones con la prueba E son directamente proporcionales a las observadas con el método de dilución en agar; por lo que los puntos de corte propuestos por los NCCLS para microdiluciones son apropiados para definir la categoría de un aislado.

Figura 2. Placa de agar Mueller Hinton con tiras colocadas en forma radiada y equidistante en donde la concentración mínima inhibitoria corresponde a la señalada por el punto de intersección entre el crecimiento bacteriano y el borde de la tira E.



Detección de BLEE: Prueba E.

Se realizó en todo similar a la prueba E anteriormente descrita excepto en lo siguiente:

Antibióticos: Cefotaxima, cefotaxima / clavulanato, ceftazidima, ceftazidima / clavulanato. Los rangos de concentración van de 0.06 a 256 mg /L.

Lectura. Comparación de la CMI entre el antibiótico solo y su combinación con el β - lactámico.

Interpretación: Una reducción en la CMI ≥ 3 obtenida con la combinación se interpretó como prueba positiva para la producción de BLEE. Figura 3.

Conservación de antibióticos.

Los antibióticos se mantuvieron en un desecador de humedad a 4 ° C, hasta antes de utilizarlos.

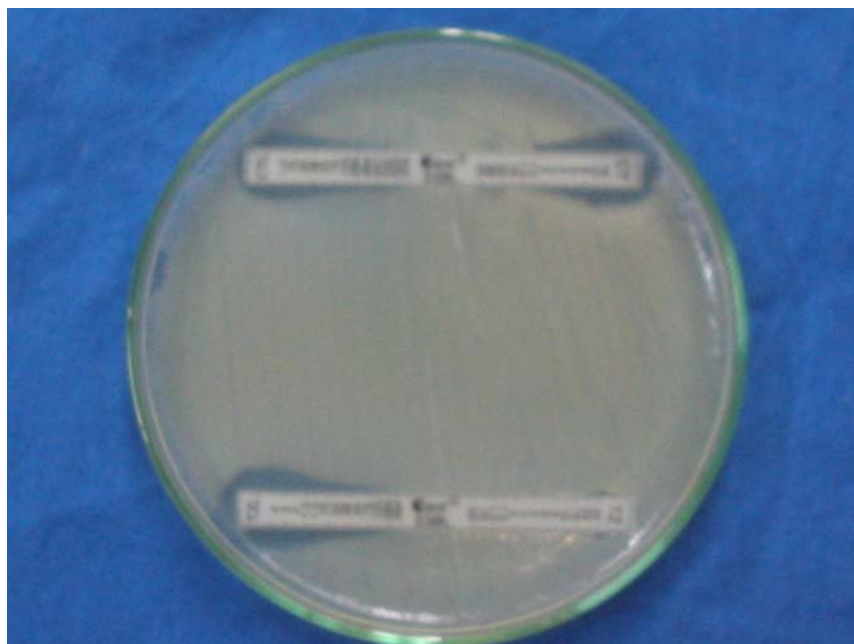
Control de calidad.

Se incluyeron las siguientes cepas de referencia:

E coli ATCC ® 25922: Aumento del diámetro de inhibición ≤ 2 mm (control negativo de BLEE).

Klebsiella pneumoniae ATCC ® 700603: Incremento ≥ 5 mm el halo de inhibición (control positivo de BLEE).

Figura 3. Detección de BLEE mediante la prueba E en donde se compara la concentración mínima inhibitoria entre el antibiótico solo y su combinación con el β - lactámico.



ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Primero, edición de los datos verificando que estuvieran completos y que fuesen coherentes. Después, se realizó análisis univariado calculando medidas de frecuencia, para las variables evaluadas con escala nominal, así como medidas de tendencia central y de dispersión para las variables evaluadas con escala de razón. Se utilizó el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 11.5.

RESULTADOS:

De octubre del 2003 a enero del 2004 se detectaron 105 infecciones intrahospitalarias (IIH), de las cuáles el 37% (39/105) correspondió a microorganismos gramnegativos. Entre éstos, se identificaron 11 pacientes con 19 episodios de IIH causados por enterobacterias. Con respecto a los pacientes: predominaron los hombres (54%), de 60 años o más (54%) y con historia de diabetes mellitus (63%). Todos habían sido tratados con cefalosporinas previamente. La mayoría (58%) fueron hospitalizados por fascitis necrosante y tuvieron una estancia hospitalaria de dos semanas o más (83%). Un 41% presentó 2 o más episodios de IIH (cuadros 1 y 2). Con relación a las enterobacterias: representaron uno de cada dos gramnegativos (19/39) y el 18% del total de microorganismos causales de IIH (19/105). Las biopsias de tejido fueron el espécimen predominante (10/19); *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* comprendieron el 78% (15/19) (cuadro 3), de las cuales, 12 fueron identificadas como productoras de BLEE por la prueba E y sólo una por difusión en agar. De acuerdo a lo anterior, la prevalencia de *E.coli* y *K. pneumoniae* presuntivamente productoras de BLEE durante el periodo estudiado fue 11.4% (12/105). Otras enterobacterias como *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii* y *Citrobacter freundii* alcanzaron el 22% (cuadros 3,4).

En el patrón de susceptibilidad, todos los aislados fueron, sensibles a imipenem; el 86% (13/15), a gentamicina; un 66.6% (10/15), a piperacilina/tazobactam; el 53 % (8/15), a amikacina; un 40% (6/15), a cefotaxima; el 33% (5/15), a cefepime y sólo 20% (3/15), a ciprofloxacino y ceftazidima (cuadro 6).

CUADRO 1 Características generales de los pacientes que presentaron infección intrahospitalaria por enterobacterias

	N=11	%
*Edad mayor o igual a 60 años	6	54.4
*Género masculino	6	54.5
*Enfermedades subyacentes		
<i>Diabetes mellitus tipo 2</i>	7	63.3
<i>Cardiopatía isquémica</i>	1	9.0
<i>Cáncer de colón</i>	1	9.0
<i>Insuficiencia renal crónica</i>	1	9.0
*Motivo de hospitalización		
<i>Infección de tejidos blandos</i>	7	63.6
<i>Encefalitis</i>	2	18.2
<i>Mediastinitis</i>	1	9.0
<i>Neumonía</i>	1	9.0
*Dos episodios de infecciones nosocomiales	4	36.4
*Tres episodios de infecciones nosocomiales	2	18.2
*Estancia hospitalaria mayor ó igual a 14 días	9	81.8

CUADRO 2 Antimicrobianos utilizados previamente por 11 paciente con infección nosocomial por enterobacterias

Nombre	No.	%
Cefalosporinas	11	100
Cefotaxima	10	90.9
Cefuroxima	1	9.0
Ceftazidima	1	9.0
Ceftriaxona	2	18.2
Cefepime	3	27.3
Amikacina	5	45.5
Pip/ taz	2	18.2
Meropenem	4	36.4
Ciprofloxacino	4	36.4
Vancomicina	1	9.0

CUADRO 3 Tipo de muestra obtenida y especies de enterobacterias aisladas.

Muestras N=19 (%)		Aislados n=19 (%)		
		<i>E.coli</i> 11(57.9%)	<i>K.Pneumoniae</i> 4 (21%)	Otras* 4(21%)
Biopsias	10	6 (31.6%)	1 (5.3%)	3 (15.8%)
Aspirado traqueal	4	3 (15.8%)	1 (5.3%)	-
Hemocultivos	3	1 (5.3%)	1(5.3%)	1 (5.3%)
Sitio de inserción del catéter	1	-	1 (5.3%)	-
Orina	1	1 (5.3%)	-	-
Total	19	11	4	4

CUADRO 4. Pacientes con dos o más infecciones

Intrahospitalarias: relación del motivo de ingreso con el origen de la infección y las especies de microorganismos aislados

MOTIVO DE INGRESO n=6	ORIGEN DE LA MUESTRA	MICROORGANISMOS AISLADOS
Encefalitis (1)	Inserción de catéter (1) Hemocultivo (1)	<i>E. cloacae</i> <i>S. marcescens</i>
Infección de tejidos blandos (5)	Aspirado traqueal (2) Biopsia de tejido (8) Hemocultivo (1) Orina (1)	<i>K. pneumoniae</i> <i>E.coli</i> <i>E. coli</i> <i>E.coli</i> <i>M. morgani</i> <i>C.freundii</i> <i>E.coli</i> <i>E.coli</i> <i>E.coli</i> <i>E.coli</i> <i>E.coli</i> <i>E.coli</i>

CUADRO 5 Concentraciones mínimas inhibitorias y producción de β lactamas de espectro extendido en las enterobacterias aisladas

Cepa	Aislamiento	Imipe	Cipro	Amika	Pip/taz	Trim/sulfa	Genta	Cefe	Tobra	Pip	Ceftaz	Ceftaz/clav	Cefo	Cefo/clav	BLEE
1	<i>K.pneumoniae</i>	2	≥ 32	≥ 256	24	≥ 256	1.5	256	256	≥ 256	≥ 256	0.5	≥ 16	.38	+
2	<i>E.cloacae</i>	0.38	0.012	2	96	1	0.5	12	≥ 256	≥ 256	192	0.1	16	0.125	
3	<i>E.coli</i>	0.38	≤ 32	12	8	0.125	1	24	≥ 256	≥ 256	16	0.094	≥ 16	0.047	+
4	<i>K.pneumoniae</i>	1.5	0.125	3	3	-	1	4	48	38	0.38	≤ 0.064	≤ 0.25	≤ 0.016	-
5	<i>K.pneumoniae</i>	-	0.25	64	16	-	0.5	3	32	≥ 256	≥ 256	≤ 0.064	≤ 0.25	≤ 0.016	+
6	<i>E.coli</i>	0.75	0.032	4	2	-	0.25	0.032	0.125	12	0.25	≤ 0.064	≤ 0.25	≤ 0.016	-
7	<i>K.pneumoniae</i>	1.5	1.5	48	128	-	0.75	12	64	≥ 256	≥ 256	≤ 0.064	8	≤ 0.016	+
8	<i>S.marcenscens</i>	0.25	0.19	192	3	≥ 32	0.5	1.5	1.5	4	-	0.125	8	≤ 1	
9	<i>E.coli</i>	0.25	≥ 32	12	8	0.125	1.5	48	≥ 256	≥ 256	24	≤ 0.064	≥ 16	0.047	+
10	<i>E.coli</i>	0.38	≥ 32	4	1.5	≥ 32	48	0.064	0.094	≥ 256	0.19	0.064	2	0.032	+
11	<i>E.coli</i>	0.38	32	12	12	0.125	0.75	24	≥ 256	≥ 256	16	0.125	≥ 16	0.032	+
12	<i>C.freundii</i>	0.38	≥ 32	8	16	≥ 32	64	48	≥ 256	≥ 256	16	0.38	≥ 16	0.125	
13	<i>E.coli</i>	0.38	≥ 32	24	16	≥ 32	0.75	48	≥ 256	≥ 256	32	-	-	≤ 0.016	s/d
14	<i>E.coli</i>	0.5	≥ 32	12	12	≥ 32	0.5	24	≥ 256	≥ 256	32	≤ 0.064	≥ 16	0.016	+
15	<i>E.coli</i>	0.5	≤ 32	32	32	≥ 32	2	192	≥ 256	≥ 256	≥ 256	≤ 0.064	≥ 16	0.064	+
16	<i>E.coli</i>	0.38	≤ 32	6	16	≥ 32	96	128	≥ 256	≥ 256	32	≤ 0.064	≥ 16	≤ 0.016	+
17	<i>E.coli</i>	0.5	≥ 32	256	24	≥ 32	1	24	≥ 256	≥ 256	≥ 256	0.19	≥ 16	0.094	+
18	<i>M.morganii</i>	2	24	3	1.5	≥ 32	3	0.032	0.023	1	0.064	0.069	≤ 0.25	0.75	
19	<i>E.coli</i>	0.75	≥ 32	256	32	≥ 32	0.5	8	192	256	256	≤ 0.064	≥ 16	≤ 0.016	+
700603	<i>K.pneumoniae</i>	1	0.5	3	16	-	6	2	128	128	48	0.125	2	0.064	control
25922	<i>E.coli</i>	0.19	0.006	2	1.5	0.19	0.5	0.032	0.023	2	0.38	≤ 0.064	≤ 0.25	≤ 0.016	control
35218	<i>Ecoli</i>	0.38	0.012	3	1	0.125	1.5	0.125	0.032	96	0.125	≤ 0.064	≤ 0.25	≤ 0.016	control

Imipe: imipenem, Cipro: ciprofloxacino, Amik: amikacina, Pip/taz: piperacilina/tazobactam, Trim/ sulf: trimetoprim con sulfametoxazol, Genta: gentamicina, Cefe: cefepime, Cefo: cefotaxima, Tobra: tobramicina, Ceftaz: ceftazidima, Ceftaz/ clav: ceftazidima/ clavulanato,

CUADRO 6. Sensibilidades y producción de β lactamasas de espectro extendido en las enterobacterias aisladas.

Cepa	aislamiento	Imipe	Cipro	Amikac	Pip/taz	Trim/sulfa	Genta	Cefe	Cefo	Tobra	Pip	Ceftaz	BLEE
1	<i>K.pneumoniae</i>	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	positiva
3	<i>E.coli</i>	S	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	positiva
4	<i>K.pneumoniae</i>	S	S	S	S	-	S	S	S	R	R	S	negativa
5	<i>K.pneumoniae</i>	-	S	R	S	-	S	S	S	R	R	R	positiva
6	<i>E.coli</i>	S	S	S	S	-	S	S	S	S	S	S	negativa
7	<i>K.pneumoniae</i>	S	R	R	R	-	S	R	S	R	R	R	positiva
9	<i>E.coli</i>	S	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	positiva
10	<i>E.coli</i>	S	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S	positiva
11	<i>E.coli</i>	S	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	positiva
13	<i>E.coli</i>	S	R	R	S	R	S	R	-	R	R	R	no determinada
14	<i>E.coli</i>	S	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	positiva
15	<i>E.coli</i>	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	positiva
16	<i>E.coli</i>	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	positiva
17	<i>E.coli</i>	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	positiva
19	<i>E.coli</i>	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	positiva

Imipe: imipenem, Cipro: ciprofloxacino, amik: amikacina, pip/taz: piperacilina/tazobactam, Trimp/ sulf: trimetoprim con sulfametoxazol, genta: gentamicina, cefe: cefepime, cefo: cefotaxima, tobra: tobramicina, ceftaz: ceftazidima, Ceftaz/ clav: ceftazidima/ clavulanato,

DISCUSIÓN

En el presente estudio, *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli* productoras de BLEE causaron el 11% (12/105) de las infecciones nosocomiales observadas durante 4 meses en el HICMNR y comprendieron el 85% (12/14) de dichas enterobacterias. Si bien la primera tasa se considera elevada, la información al respecto está limitada por las siguientes razones: Primero, porque la producción de BLEE se investiga en sólo un 32% de los laboratorios de microbiología clínica⁽²⁹⁾; segundo, sólo en uno de dos laboratorios se generan resultados correctos⁽³⁰⁾; y tercero, la variación en el punto de corte para reporte de resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido, parámetro base en la detección presuntiva de BLEE, ha oscilado de ≥ 2 a $\geq 64\mu\text{g/ml}$ ⁽³¹⁾. La segunda tasa (85%), se asemeja más a lo que ocurre en otros países de Latinoamérica y Europa que a lo observado en Estados Unidos y Canadá, ya que la proporción de *K.pneumoniae* y *E.coli* productoras de BLEE comprenden más del 80% y 61%, en los primeros, y sólo alcanzan el 42% y 27%, en los segundos, respectivamente⁽³²⁾. Por lo tanto, el conocimiento de las infecciones nosocomiales causadas por *K. pneumoniae* y *E.coli* productoras de BLEE es parcial. En el presente estudio se ponen de relevancia datos sobre los pacientes y los agentes causales. Con respecto a los enfermos, se les identificó como sujetos de riesgo para las infecciones mencionadas al menos por dos características: el uso previo de antimicrobianos y la estancia hospitalaria prolongada. El primero, porque todos los pacientes recibieron antimicrobianos durante el mes previo a la infección, y aunque predominaron las cefalosporinas de tercera generación (9/11, 90%) otros grupos de antimicrobianos también fueron utilizados. El uso previo de cefalosporinas de tercera generación, particularmente de ceftazidima, se ha relacionado directamente con la tasa de infecciones hospitalarias por microorganismos productores de BLEE^(33,34). Sin embargo, tal relación también se ha encontrado para otros

grupos de antibióticos, como quinolonas, trimetoprim-sulfametoxazol, aminoglucósidos y metronidazol ⁽³¹⁾. La segunda, porque la estancia hospitalaria promedio para el grupo estudiado fue de 14 días o más (9/11, 81%), periodo ubicado dentro del rango relacionado con la adquisición de infección por *E.coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE el cuál oscila de 11 a 67 días ^(35,36,37,38,39,41). Con respecto a los agentes causales se puntualizan dos hechos: el predominio de *E. coli* y el patrón de susceptibilidad. El primero porque si bien *E. coli* y *K. pneumoniae* representaron el 73% (14/19) de las enterobacterias causantes de IN, *E.coli* predominó (10/19, 58%). Este dato contrasta con otros reportes donde *K. pneumoniae* ha causado la mayoría de las infecciones (25/33, 75%) ⁽³⁹⁾ o una proporción equivalente (11/21, 52%) ⁽⁴⁰⁾. No se cuenta con explicación para tal diferencia, pero probablemente se relacione con dos características de *K.pneumoniae*: sobrevive más que otras enterobacterias en el ambiente hospitalario ⁽⁴²⁾ y tiene capacidad de transferir plásmidos de resistencia ⁽⁴³⁾. El segundo porque se confirmó la frecuente resistencia a PTZ (5/12,40%), amikacina (6/12, 50%), TMSX (7/10,70%) cefepime (9/12,75%), ciprofloxacino (11/12,91%), así como la sensibilidad uniforme al imipenem. La corresponsencia es un hecho observado en uno de cada 5 aislados de *E.coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE ⁽⁴⁴⁾, por lo que los carbapenemes han sido los antibióticos de elección para dichas infecciones ya que su anillo B-lactámico no es hidrolizado por las BLEE. Sin embargo, durante la última década se ha reportado resistencia a los carbapenemes, con extensión geográfica gradual y tasas de resistencia ascendentes, de menos del 1% en el 2000 al 8% en el 2007, entre los aislados nosocomiales de *Klebsiella*, ^{(32, 44,}
⁴⁵⁾ Por lo tanto, se ratifica el reto clínico en el manejo de estas infecciones.

LIMITACIONES

Las limitantes del presente estudio implican tanto a la población estudiada como a los aislados bacterianos. De la primera, lo pequeño de la muestra y el haber incluido varios episodios de infecciones del mismo paciente. Este último aspecto es controversial ya que otros autores no han encontrado diferencia cuando comparan los datos obtenidos de los sujetos incluidos sólo una vez con la información recabada cuando a los individuos se les capta en más de un episodio ⁽⁴³⁾. De los segundos, el realizar la detección de BLEE con la prueba E, cuya sensibilidad es controversial ⁽⁴⁴⁾, y el no efectuar el estudio molecular de los microorganismos para determinar su relación genética. No obstante, se ha demostrado que entre las infecciones causadas por *E. coli* productora de BLEE la relación clonal o epidémica se observa en el 55% de los casos de infecciones nosocomiales mientras que dicha proporción es baja entre las infecciones adquiridas en la comunidad ⁽⁴⁵⁾. En nuestro país, un estudio molecular de enterobacterias productoras de BLEE de 7 hospitales sugiere que la diseminación de la resistencia a cefalosporinas pudiera deberse a la transmisión horizontal de plásmidos entre cepas sin relación clonal ⁽⁴⁶⁾. De donde, tanto la transmisión horizontal como la presión selectiva por el uso de antimicrobianos son importantes en la génesis de las infecciones nosocomiales causadas por microorganismos productores de BLEE, por lo que el estudio molecular de los aislados, aunque conveniente, no resulta indispensable para que las medidas de prevención y control sean reforzadas.

SUGERENCIAS

Es conveniente efectuar la detección y tratar las infecciones causadas por microorganismos productores de BLEE, al menos por dos razones. La primera, para limitar la emergencia de dichos gérmenes, implementando no sólo la restricción de antimicrobianos, particularmente cefalosporinas, sino también hacer efectivas las medidas para el control de la infección, como el lavado de manos y el uso de guantes, ya que se ha documentado la transmisión horizontal en el análisis molecular. La segunda, porque existe evidencia de una mala evolución clínica e incremento en el costo hospitalario cuando los enfermos con infecciones por *E. coli* y *Klebsiella sp* no se tratan con el carbapenem inicialmente. Por lo tanto, la identificación temprana y confiable de los gérmenes productores de BLEE resulta necesaria. ^(47, 48,49)

BIBLIOGRAFÍA:

1. Tenover FC, Mohammed MJ, Gorton TS, et al. Detection and reporting of organisms producing extended-spectrum β -lactamases: Survey of laboratories in Connecticut. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 4065-4070.
2. Paterson DI, Yu VL. Extended-spectrum β -lactamases: a call for improved detection and control. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 1419-1422.
3. Rupp ME, Fey PD. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae*: considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. *Drugs* 2003; 63: 353- 365.
4. Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 48: 933-951.
5. Meyer SK, Urban C, Eagan JA, et al. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late generation cephalosporins. *Ann Intern Med* 1993; 119: 353-358.
6. Petit A, Gerbaud G, Sirot D, et al. Molecular epidemiology of TEM – 3 (CTX – 1) β – lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 219-224.
7. Patterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al. Outcome of cephalosporin treatment for serious infectious due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2206-2212.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standard 2002. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Approved standard M100-S12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.

9. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β - lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-1233.
10. Kotra L, Mobashery S. Mechanism and clinical aspects of β - lactam antibiotics and β - lactamases. *Arch Immun Therap Exp* 1999; 47: 211- 216.
11. Kotra L, Mobashery S. β - Lactam antibiotics, β - lactamases and bacterial resistance. *Bull Inst Pasteur* 1998; 96. 139-150.
12. Bush K. Is it important to identify extended-spectrum β – lactamase – producing isolates? *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1996; 15 : 361-364.
13. Shannon KP, King A, Phillips I, Nicholas MH, et al. Importation of organisms producing broad spectrum SHV group β – lactamases into the United Kingdom. *J Antimicrob Chemotherapy* 1990; 25: 343-351.
14. Katsanis GP, Sapargu J, Ferraro MJ, et al. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β – lactamases. *J Clin Microb* 1994; 32: 691-696.
15. Patterson JE. Extended -spectrum beta- lactamases. *Semin Respir Care Med* 2003; 24: 79-87.
16. Guzman-Blanco M, Casellas JM, Sader HS. Bacterial resistance to antimicrobial agents in Latin America. *Infect Dis Clin N Amer* 2000; 14:67–81.
17. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended- spectrum β – lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: Comparison of the double disk and three dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:1877- 1882.

18. Cormican MG, Marshall SA, Jones RN. Detection of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing strains by the E-test ESBL screen. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1880-1884.
19. Isenberg HD 1998. Essential procedures for clinical microbiology. American Society for Microbiology. Washington DC.
20. Vercauteren E, Descheemaeker P, Ieven M, et al. Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum beta-lactamases and their prevalence among blood isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* in a Belgian teaching hospital. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2191-2197.
21. Sanders CC, Peyret M, Moland ES, et al. Ability of VITEK 2 advanced expert system to identify β -lactam phenotypes in isolates of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 570-574.
22. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, et al. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β -lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis* 2001; 32 (Suppl. 2): S94-103.
23. Quinteros M, Radice M, Gardella N, et al. Extended-spectrum β -lactamases in *Enterobacteriaceae* in Buenos Aires, Argentina, public hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2864- 2867.
24. Méndez RI, Guerrero DN, Moreno AL, et al. El protocolo de investigación: Lineamientos para su elaboración y análisis. Trillas 1990.

25. Silva J Aguilar Z, Becerra F, et al. Extended- spectrum β -lactamases in clinical isolates of enterobacteria in México. *Microb Drug Resist* 1999; 5: 189- 193.
26. Silva J, Gatica R, Aguilar C, et al. Outbreak infection with extended-spectrum β -lactamase- producing *Klebsiella pneumoniae* in a Mexican hospital. *J Clin Microb* 2001; 39: 3193- 3196.
27. Norma Oficial Mexicana NOM- 026-SSA2-1998, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales.
28. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections. *Am J Infect Control*; 1988: 16: 177.
29. Murray RP, Kobayashi SG, Pfaller AM. *Medical Microbiology*. Ed Mosby 1994.
30. CDC.Laboratory capacity to detect antimicrobial resistance. *MMWR* 2000; 48: 1167-71.
31. Hageman JC, Fridkin SK, Mohammed JM, et al. Antimicrobial proficiency testing of National Nosocomial Infections Surveillance System hospital laboratories. *Control Hosp Epidemiol* 2003; 24:356–361.
32. Paterson D, Bonomo R. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 657-686.
33. Quale JM, Landman PA, Bradford M, Visalli j, Ravishankar C, Flores D, Mayorga K, Vangala, Adedeji A. Molecular epidemiology of a citywide outbreak of extended-spectrum beta- lactamase- producing *Klebsiella pneumoniae* infection. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 834- 841.
34. Saurina G, Quale JM, Manikai M, Oydna E, Landman D. Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* in Brooklyn, N.Y.: epidemiology and relation to antibiotic usage patterns. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 895-898.

35. Asensio A, Oliver P, González Diego F, Baquero JC, Pérez- Díaz P, Ros J, Cobo M, Palacios D, Lasheras D, Canton R. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. *Clinic Infect Dis* 2000; 30: 55- 60.
36. Bisson G, Fishman J, Patel P, Edelstein H, Lautenbach. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. *Infect Control Hosp* 2002; 23: 254- 260.
37. D'Agata E, Venkataraman L, De Girolamic P, Weigel L, Samore M, Tenover F. The molecular and clinical epidemiology of *Enterobacteriaceae*- producing extended-spectrum beta-lactamase in a tertiary care hospital. *J Infect* 1998; 36: 279–285.XPPP
38. De Champs C, Rouby D, Guelon J, et al. A case-control study of an outbreak of infections caused by *Klebsiella pneumoniae* strains producing CTX-1 (TEM-3) beta-lactamase. *J Hosp Infect* 1991; 18:5–13.
39. De Champs C, Sauvant MP, Chanal, Sirot D, GazuyR, Malhuret JC, Baguet, Sirot J. Prospective survey of colonization and infection caused by expanded-spectrum- β -lactamase-producing members of the family *Enterobacteriaceae* in an intensive care unit. *J Clin Microbiol* 1989; 27:2887– 2890.
40. Lautenbach E, Patel JB, Ilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1162-1171.
41. Lee SY, Kotapati S, Kuti JL, Nightingale CH, Nicolau DP. Impact of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species on clinical outcomes and

42. Wiener J, Quinn JP, Bradford A, et al. Multiple antibiotic resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. JAMA 1999; 281:517- 523.
43. Casewell MW, Phillips I. Aspects of the plasmid- mediated antibiotic resistance and epidemiology of *Klebsiella* species. Am J Med. 1981; 70: 459- 462.
44. Gottesman T, Agmon O, Shwartz O, Dan M. Household transmission of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*. Emerg Infect Dis 2010; 16:1014-1017.
45. Deshpande LM, Jones RN, Fitts TR, Sader HS. Occurrence and characterization of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000-2004). Microb Drug Resist 2006; 12: 223-230.
46. Garza-Ramos U, Martínez-Romero E, Silva-Sánchez J. SHV-type extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) are encoded in related plasmids from enterobacteria clinical isolates from Mexico. Salud Publica Mex 2007; 49:415-421.
47. Hyle EP, Lipworth AD, Zaoutis TE, Nachamkin I, Fishman NO, Bilker WB, et al. Risk factors for increasing multidrug resistance among extended-spectrum β -Lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species. Clin Infect Dis 2005; 40: 1317- 1324.
48. CDC. Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities. MMWR 2009; 58:256-260.
49. Rodríguez- Baño J, Picón E, Gijón P, Hernández JR, et al. Community- onset bacteremia due to extended spectrum B- lactamase- producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. Clin Infect Dis 2010; 50: 40-48.

Anexo 1

CUESTIONARIO DE PROYECTO DE INVESTIGACION

NOMBRE:	ENFERMEDAD SUBYACENTE		
NSS:	DIABETES MELLITUS	SI	NO
GENERO:	INMUNODEFICIENCIA	SI	NO
EDAD:	HIPERTENSION ARTERIAL	SI	NO
ESTANCIA HOSPITALARIA:	CARDIOPATIA	SI	NO

SITIO DE INFECCION

SANGRE	SI	NO	PULMON	SI	NO
TEJIDOS BLANDOS	SI	NO	VIA URINARIA	SI	NO
HEMOCULTIVO	SI	NO	ASPIRADO TRAQUEAL	SI	NO
ORINA	SI	NO	TEJIDOS O FASCIAS	SI	NO

USO PREVIO DE ANTIBIOTICOS

AMIKACINA	SI	NO	CEFALOTIN	SI	NO	CEPPIROM	SI	NO	ERITROMICINA	SI	NO
AMOX/CLAV	SI	NO	CEFAMEND	SI	NO	CEFTAZIDIM	SI	NO	FLUCOXAC	SI	NO
AMPICILINA	SI	NO	CEFAZOLIN	SI	NO	CEFTRIAXONA	SI	NO	GENTAMICINA	SI	NO
AMP/SULB	SI	NO	CEFEPIME	SI	NO	CEFUROXIM	SI	NO	IMIPENEM	SI	NO
AZYTROM	SI	NO	CEFOPERA	SI	NO	CIPROFLOX	SI	NO	MEROPENEM	SI	NO
AZTREONA	SI	NO	CEFOTAXIM	SI	NO	CLINDAMICINA	SI	NO	METRONIDAZOL	SI	NO
PENI G	SI	NO	PIPERACILI	SI	NO	TETRACICLINA	SI	NO	TRIM/SULFA	SI	NO
PIP/TAZ	SI	NO	RIFAMPICI	SI	NO	TIC/CLAVUL	SI	NO	VANCOMICINA	SI	NO

GRAM NEGATIVOS AISLADOS

<i>Achromobact</i>	SI	NO	<i>Fluvubacteri</i>	SI	NO	<i>Proteus</i>	SI	NO
<i>Acinetobact</i>	SI	NO	<i>Haemophilus</i>	SI	NO	<i>Providencia</i>	SI	NO
<i>Aeromonas</i>	SI	NO	<i>Hafnia</i>	SI	NO	<i>Pseudomonas</i>	SI	NO
<i>Alcaliegienes</i>	SI	NO	<i>Klebsiella</i>	SI	NO	<i>Serratia</i>	SI	NO
<i>Chromobact</i>	SI	NO	<i>Kluyvera</i>	SI	NO	<i>Xanthomonas</i>	SI	NO
<i>Citrobacter</i>	SI	NO	<i>Moraxella</i>	SI	NO			
<i>Edwarsiella</i>	SI	NO	<i>Pasteurella</i>	SI	NO			
<i>Enterobacter</i>	SI	NO						
<i>E. coli</i>	SI	NO	<i>Morganella</i>	SI	NO			

PRODUCCION DE β LACTAMASAS	SI	NO
----------------------------------	----	----

Anexo 2.

		⑥ Prueba E CMI's. mg/L*														
Agente	Código	≤0.06	.13	.25	.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	≥256	
Imipenem	IP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Plate 1
Ceftazidime	TZ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Pip/Tazo 4	PTc	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Ciprofloaxin	CI	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Gentamicin	GM	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Ceftriaxone	TX	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
§	MK	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Plate 2	
Amikacin	AK	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Cefepime	PM	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Cefotaxime	CT	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Piperacilin	PP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Trim/Sulf 1:19	TS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Ceftaz/Clav 4	TZL															ESBL plate Klebs. & E. coli
π Optional		≤0.06	.13	.25	.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256	≥256	
		Cefotaxime	CT	Record MIC	< 0.25				Cefotax/Clav	CTL	Record MIC	<0.016				
			T2		<0.50					T2L		<0.064				

PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

México D.F. a ____ de _____ del 2003

Por medio del presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado Prevalencia de infecciones por enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido en pacientes hospitalizados. Registrado ante el Comité Local de Investigación Médica del Hospital de Infectología del CMNR con el número 03-16-01-04. El objetivo de este estudio es: Determinar la prevalencia de infecciones causadas por enterobacterias productoras de β - lactamasas de espectro extendido en pacientes atendidos en el HICMNR

Se me ha explicado que mi participación consistirá en la realización toma de muestras de sangre, orina, aspirados bronquiales y de sitios donde tenga infecciones como tejidos blandos. Lo anterior es importante para determinar sistemas integrales de vigilancia epidemiológica y líneas de tratamiento farmacológico alternas que sean benéficas para mi tratamiento. Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio. El investigador principal se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder a cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevaron a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento. Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en lo que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo del Instituto.

El investigador me ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el estudio.

Nombre y Firma del paciente

MC.Elena Urdez Hernández
Investigador Principal.

Testigo

Roberto Peralta Juárez
Residente 2° de Infectología.

FLUJOGRAMA DE TRABAJO

