



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"**

**Caracterización molecular de *Burkholderia cepacia* aisladas
de casos en los servicios clínicos de la Subdirección de
Pediatria del Hospital General "Dr. Manuel Gea González"**

TESIS

QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD EN

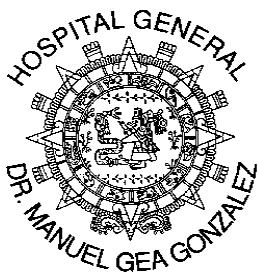
PEDIATRÍA

PRESENTA:

Dra. Iris Evelin Paredes Alonzo

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Rigoberto Hernández Castro



Agosto, 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

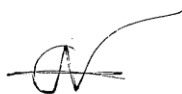
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.

Este trabajo fue realizado en los Servicios Clínicos de la Subdirección de Pediatría, Laboratorio Clínico y Departamento de Ecología de Agentes Patógenos del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, así como en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México; bajo la Dirección del Dr. Rigoberto Hernández Castro.

Este trabajo de Tesis con No. 21-75-2013 presentado por la alumna Iris Evelin Paredes Alonzo, se presenta en forma con visto bueno por el Tutor responsable de la Tesis Dr. Rigoberto Hernández Castro y la División de Investigación Clínica a cargo de la Dra. María de Lourdes Suárez Roa y con fecha agosto de 2012 para su impresión.

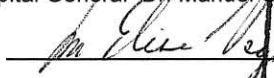


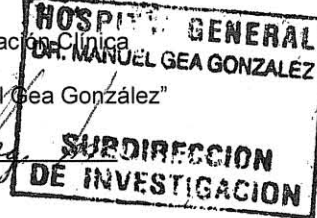
Tutor Principal

Dr. Rigoberto Hernández Castro

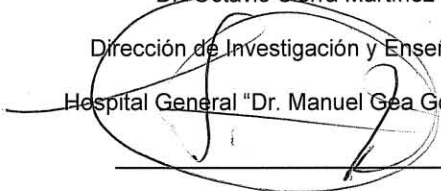
AUTORIZACIONES

Dra. María Elisa Vega Memije
Subdirección de Investigación Clínica
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



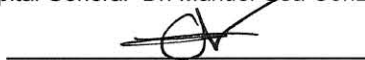


Dr. Octavio Sierra Martínez
Dirección de Investigación y Enseñanza
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"

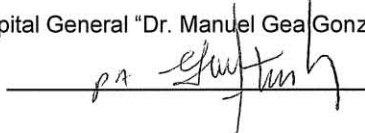




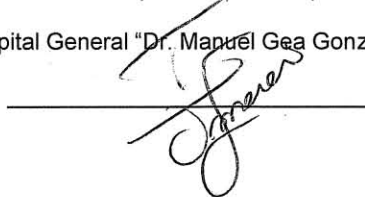
Dr. Rigoberto Hernández Castro
Dirección de Investigación
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



Dra. Lorena Hernández Delgado
Subdirectora de Pediatría
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



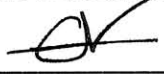
Dra. Irma Jiménez Escobar
Profesor Titular del curso de especialización de pediatría medica UNAM
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



Caracterización molecular de *Burkholderia cepacia* aisladas de casos en los servicios clínicos de la Subdirección de Pediatría del Hospital General "Dr. Manuel Gea González".

Colaboradores:

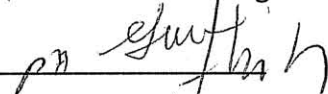
Dr. Rigoberto Hernández Castro. Dirección de investigación.

Firma 

Dra. Iris Evelin Paredes Alonzo. Residente de tercer año del servicio de pediatría.

Firma 


Dra. Lorena Hernández Delgado. Subdirectora del Servicio de Pediatría

Firma 

Dr. Gerardo Flores Nava. Jefe División de Pediatría

Firma 

Dra. Mirza Romero Valdovinos. Investigadora Ciencias Médicas C

Firma 

Dra. Gabriela Delgado Sapién. Técnico académico. Facultad de Medicina UNAM

Firma 

QC. Sara Arroyo Escalante. Química del departamento de Biología Molecular e Histocompatibilidad

Firma 

QBP. David Moncada Barrón. Jefe del Área de Microbiología. Laboratorio Clínico

Firma 

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por su comprensión y estímulo constante, además de su apoyo incondicional a lo largo de mis estudios.

A mi asesor, Dr. Rigoberto Hernández Castro, quien me brindo su valiosa y desinteresada orientación y guía en la elaboración del presenta trabajo de investigación.

Y a todas las personas que en una u otra forma me apoyaron en la realización de este trabajo.

INDICE

Glosario	9
Relación de figuras y tablas	11
Resumen	20
1. Introducción	21
2. Antecedentes	
2.1. Taxonomía.....	23
2.2. Epidemiología.....	24
2.3 Espectro clínico.....	26
2.4. Brotes.....	27
2.5 Diagnóstico.....	28
2.6 Terapia.....	30
2.7 Prevención y control.....	30
2.8 Marco Teórico.....	31
3. Planteamiento del problema	38
4. Justificación.....	38
5. Objetivos	
5.1. Objetivo Principal	39
5.2. Objetivo Secundario	39
6. Material y Métodos	
6.1. Tipo de investigación.....	39
6.2. Diseño de investigación.....	39
6.3. Criterios de selección de la muestra.....	40
6.4. Identificación de Variables.....	40

6.5. Tamaño de la muestra.....	42
6.6. Descripción de Procedimientos.....	42
6.7. Análisis estadístico.....	44
7. Resultados.....	45
8. Discusión	49
9. Conclusiones	50
10. Perspectivas	51
11. Bibliografía.....	52
12. Anexos	
12.1. Hoja de recolección de datos	56

GLOSARIO

Palabras clave.

INFECCIÓN. Invasión del cuerpo por uno o más microorganismos que superan las barreras externas y/o internas y proliferan en los tejidos desarrollando su capacidad agresiva y produciendo toxinas frente a las cuales reaccionará el organismo desarrollando una respuesta inmunológica.

INFECCIÓN NOSOCOMIAL. Cualquier enfermedad microbiológica o clínicamente reconocible, que afecta al paciente como consecuencia de su ingreso en el hospital; se expresa tras las 72 horas después del ingreso.

COLONIZACIÓN. Capacidad de las bacterias para establecerse y multiplicarse en la piel y/o mucosas del huésped en cantidades suficientes que permitan mantener un cierto número poblacional; sin que su presencia determine respuestas clínicas ni inmunológicas.

BACTEREMIA. Paso de bacterias al torrente sanguíneo, por inoculación directa, al puncionar venas o arterias, o espontáneamente, a partir de una infección de algún órgano o tejido del organismo.

BROTE. Sinónimo de epidemia. Aparición repentina de una enfermedad debida a una infección en un lugar específico. Estos a menudo se limitan a un pueblo o una pequeña área.

VIRULENCIA. Es el mayor o menor grado de patogenicidad que posee un microorganismo.

FENOTIPO. El fenotipo es una característica bioquímica, fisiológica, o un rasgo físico específico; resultado de una expresión genotípica y epigenética.

GENOTIPO. Constitución genética completa de un organismo. Está determinado por la interacción, combinación y localización de los genes en los cromosomas.

GENOMOVARES. El término denota especies genómicas fenotípicamente similares.

INMUNOCOMPROMISO. Estado patológico del sistema inmunitario que lo hace disfuncional. Por alteraciones en el funcionamiento del sistema inmunitario el organismo es vulnerable a infecciones y tiene mayor probabilidad de padecer cáncer.

RESISTENCIA ANTIBIOTICA. Capacidad de un microorganismo para resistir la acción de los antibióticos. Puede ser natural, producción de enzimas, alteración de proteínas y adquirida por mutación, generalmente esta mediada por intercambio genético con otro organismo resistente.

SÍNDROME CEPACIA. Cuadro clínico caracterizado por fiebre alta, insuficiencia respiratoria progresiva severa, leucocitosis y elevación de la velocidad de sedimentación globular.

Abreviaturas.

BCC. Complejo *Burkholderia cepacia*

FQ. Fibrosis Quística

EGC. Enfermedad granulomatosa crónica

PFGE. Electroforesis en gel por campos pulsados

HGMGG. Hospital General “Dr. Manuel Gea González”

UTIP. Unidad de cuidados intensivos pediátricos

UCIN. Unidad de cuidados intensivos neonatales

RELACION DE FIGURAS Y TABLAS

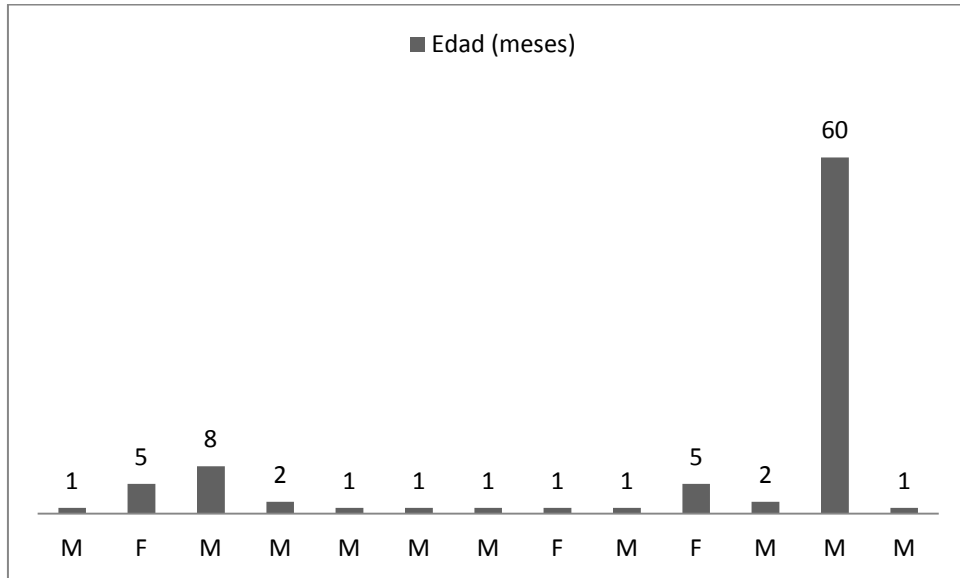


Grafico I. Edad y sexo de los pacientes. 53.84% de los casos se presentaron en menores de 1 mes (RN), 38.46% en lactantes, y solo 7.69% en preescolares. 76.92% de los casos corresponden masculino y 23.07% al sexo femenino.

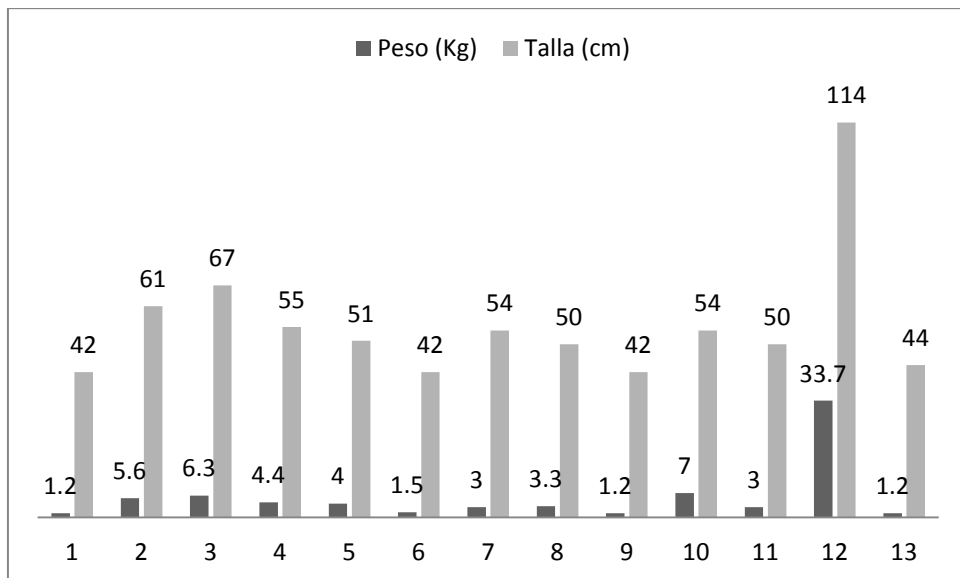


Grafico II. Peso y talla de los pacientes estudiados. Peso con media de 5.8 Kg, DE 8.2 (mín. 1.200, máx. 33.700). Talla con media de 5.8 cm, DE 18.2 (mín. 42, máx. 114).

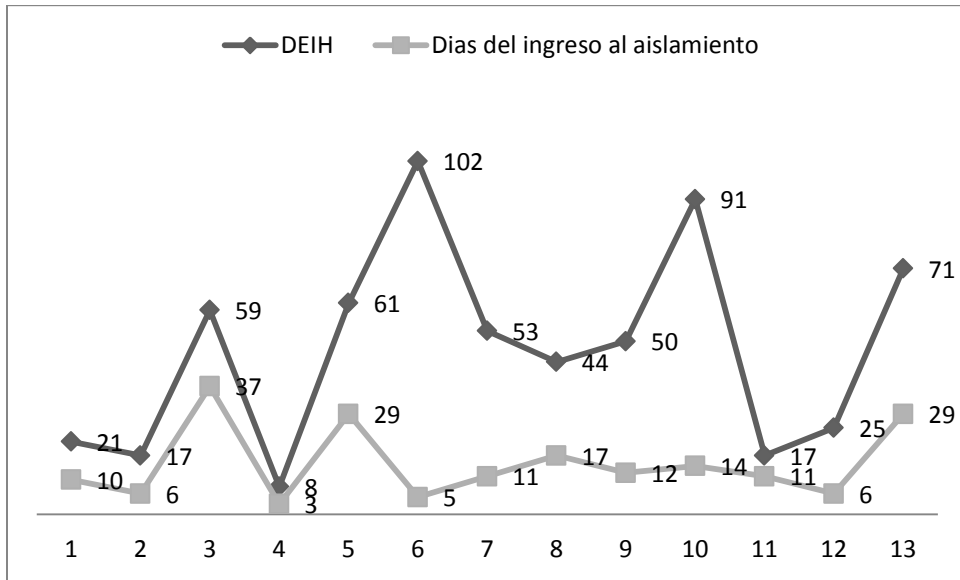


Grafico III. Días de Estancia Intrahospitalaria. Media de 47.6 días, DE 8 (mín. 8, máx. 102). **Días del ingreso al aislamiento.** Media de 14.6 días, DE 10.1 (mín. 3, máx 37).

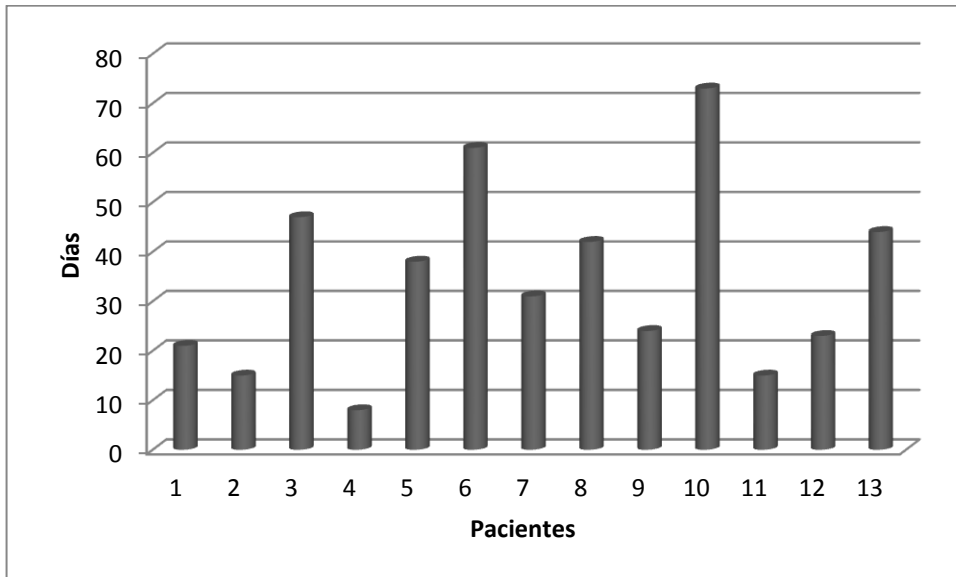


Grafico IV. Días con catéter venoso central. Media de 34 días, DE 18 (mín. 8, máx. 73).

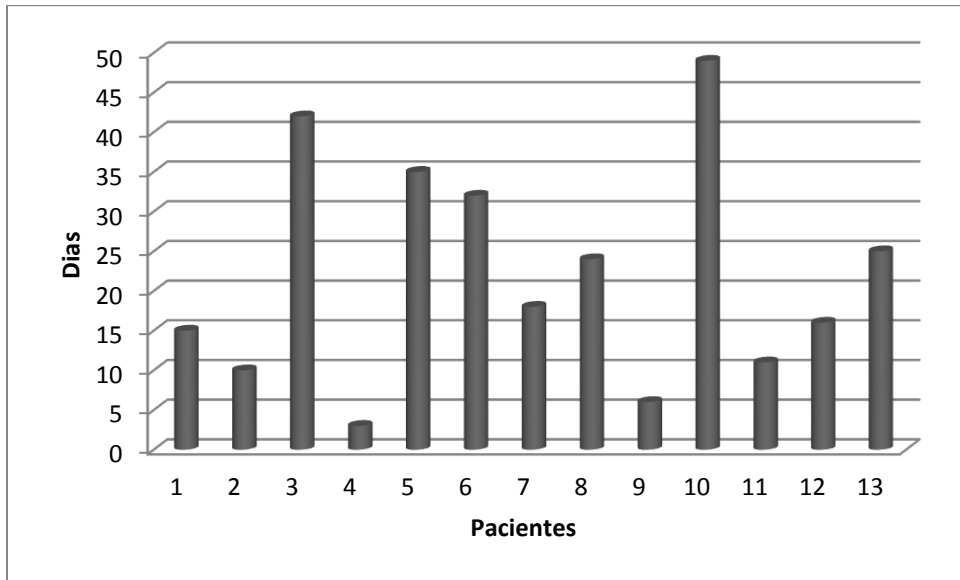


Grafico V. Días con Ventilación Mecánica. Media de 21.2 días, DE 14.1 (mín. 4, máx. 49).

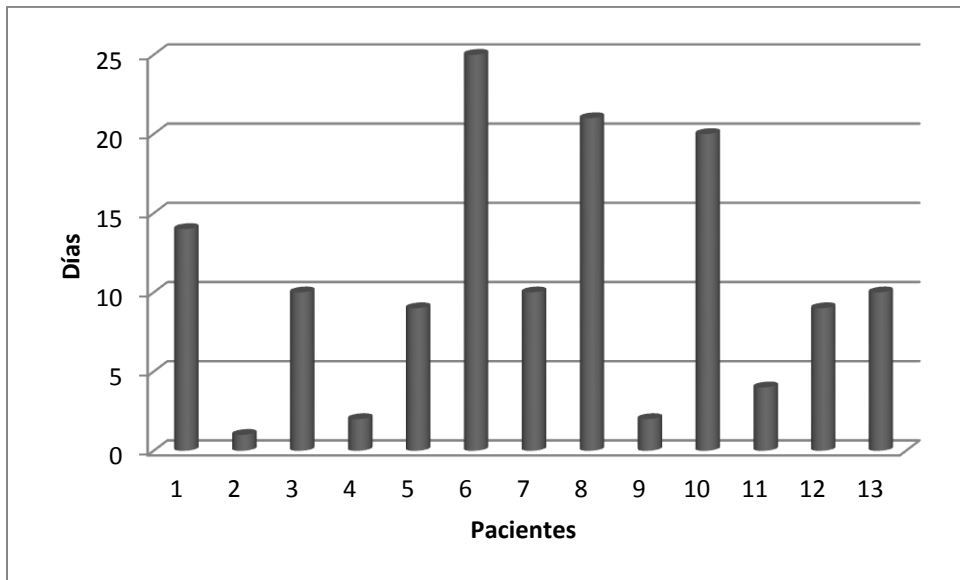


Grafico VI. Días con Sonda Urinaria. Media de 10.5 días, DE 7.3 (mín. 1, máx. 25).

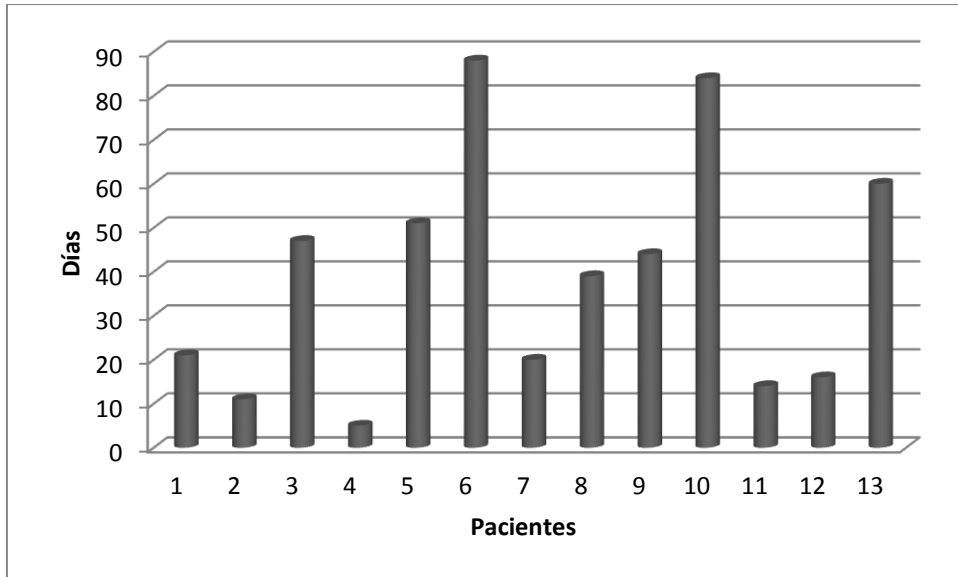


Gráfico VII. Días con Sonda Nasogástrica. Media de 38.4 días, DE 26.1 (mín. 5, máx. 88).

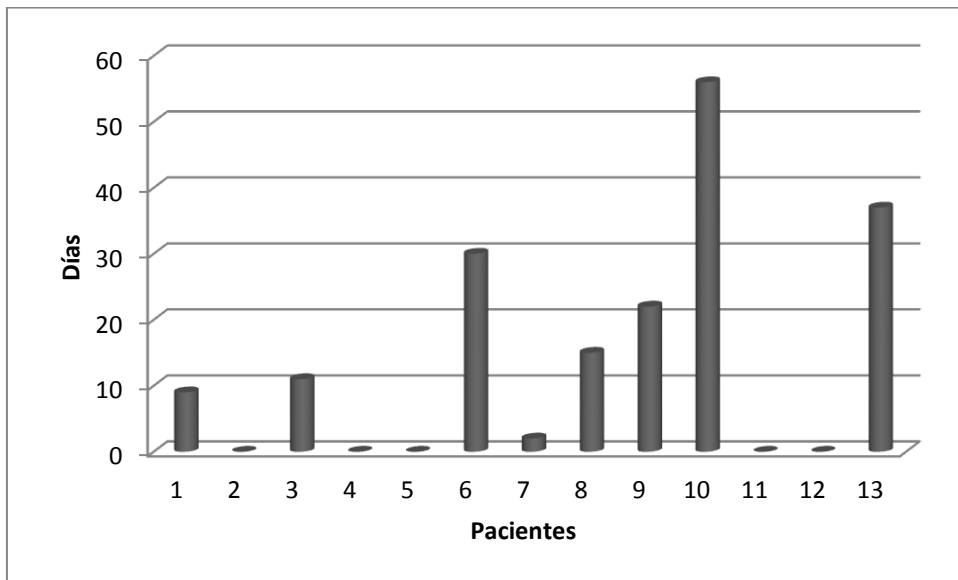


Gráfico VIII. Días con Nutrición Parenteral Total. Media de 22.7 días, DE 16.5 (mín. 0, máx. 56).

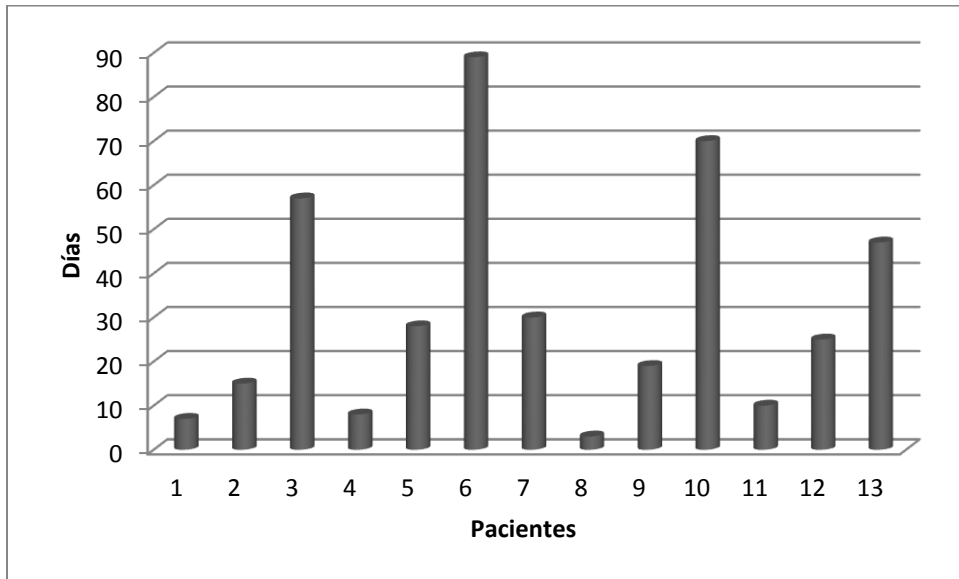


Gráfico IX. Días con Nebulizador. Media 31.3 días, DE 25.7 (mín. 3, máx. 89).

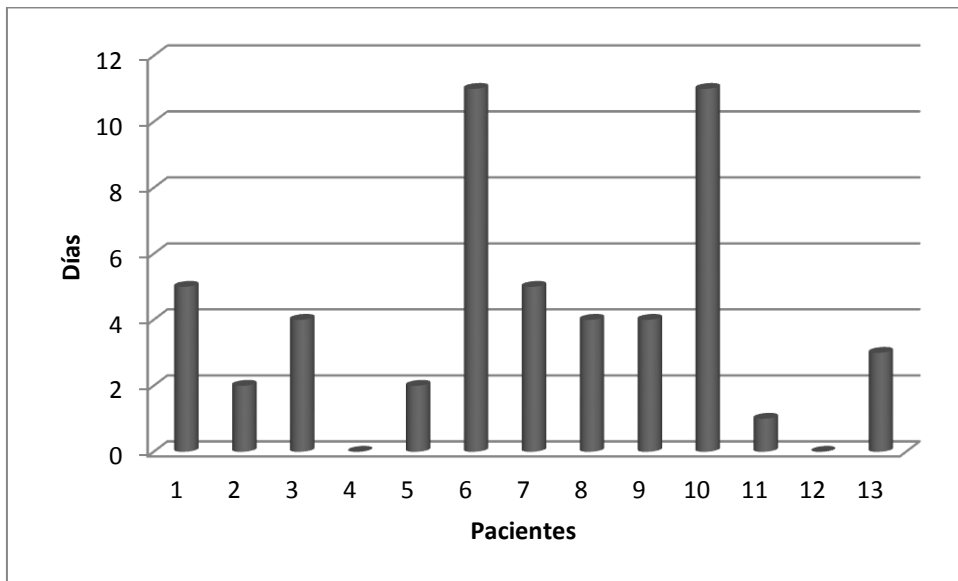


Gráfico X. Pacientes que recibieron Transfusión sanguínea. Media de 4, DE 3 (mín. 0, máx. 11).

No.	Fecha	Servicio	Especimen	MIC	MIC (ug/ml)																						
				(ug/ml)	A/S	AMK	AMP	AZT	CTX	CTZ	C/C	CFX	CFX/C	CFZ	CFZ	CFP	CFR	CFT	GM	IMP	LVFX	MEPM	MXFX	P/T	T/S	T/C	TOB
586	16/11/2010	UTIP	Hemocultivo																								
598	01/12/2010	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	<=8	<=2/38	>64	>8	
636	03/01/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	>16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	<=8	<=2/38	>64	>8	
650	18/01/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	4	<=4	<=2	<=8	<=2/38	>64	>8	
649	23/01/2011	UTIP	CSB																								
689	21/02/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	16	<=2/38	>64	>8	
810	03/06/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	<=8	<=2/38	>64	>8	
848	16/07/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	4	<=4	<=2	16	<=2/38	>64	>8	
855	20/07/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	<=8	<=2/38	>64	>8	
869	26/07/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	8	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	16	<=2/38	>64	>8	
902	03/08/2011	UCIN	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	8	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	16	<=2/38	>64	>8	
901	12/08/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	<=1	>16	>16	32	>8	>8	<=2	>8	<=2	>64	<=2/38	>64	>8	
882	16/08/2011	UTIP	Catéter																								
888	18/08/2011	UTIP	Urocultivo	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	16	<=2/38	>64	>8	
879	22/08/2011	UTIP	Hemocultivo																								
886	24/08/2011	UTIP	Hemocultivo	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	>2	>16	>16	>32	>8	>8	4	<=4	<=2	<=8	<=2/38	>64	>8	
885	25/08/2011	UTIP	Coproculativo																								
887	29/08/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	64	<=2/38	>64	>8	
894	02/09/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	<=8	<=2/38	>64	>8	
896	02/09/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	<=8	<=2/38	>64	>8	
899	06/09/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	8	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	16	<=2/38	>64	>8	
907	09/09/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	16	<=2/38	>64	>8	
905	14/09/2011	UTIP	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	16	>2	>32	>4	>16	2	>16	>16	>32	>8	>8	<=2	<=4	<=2	16	<=2/38	>64	>8	
937	07/10/2011	UCIN	CSB	>16/8	>32	>16	>16	>32	8	2	>32	>4	>16	<=1	>16	>16	<=16	>8	8	<=2	<=4	<=2	<=8	<=2/38	>64	>8	

TABLA 1. Tabla de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC). A/S, AMPICILINA/SULBACTAM; AMK, AMIKACINA; AMP, AMPICILINA; AZT, AZTREONAM; CTX, CEFTRIAXONA; CTZ, CEFTAZIDIMA; C/C, CEFTAZIDIMA/A.CLAVULANICO; CFX, CEFOTAXIMA; CFX/C, CEFOTAXIMA/A.CLAVULANICO; CFZ, CEFAZOLINA; CFP, CIPROFLOXACINA; CFR, CEFUROXIMA; CFT, CEFOTETAN; GM, GENTAMICINA; IMP, IMPENEM; LVFX, LEVOFLOXACINA; MEPM, MEROPENEM; MXFX, MOXIFLOXACINA; P/T, PIP/TAZO; T/S, TMP/SMZ; T/C, TICAR/A.CLAVULANATO; TOB, TOBRAMICINA

M 649 689 848 M 879 886 893 903 M 901 907 886 586 M

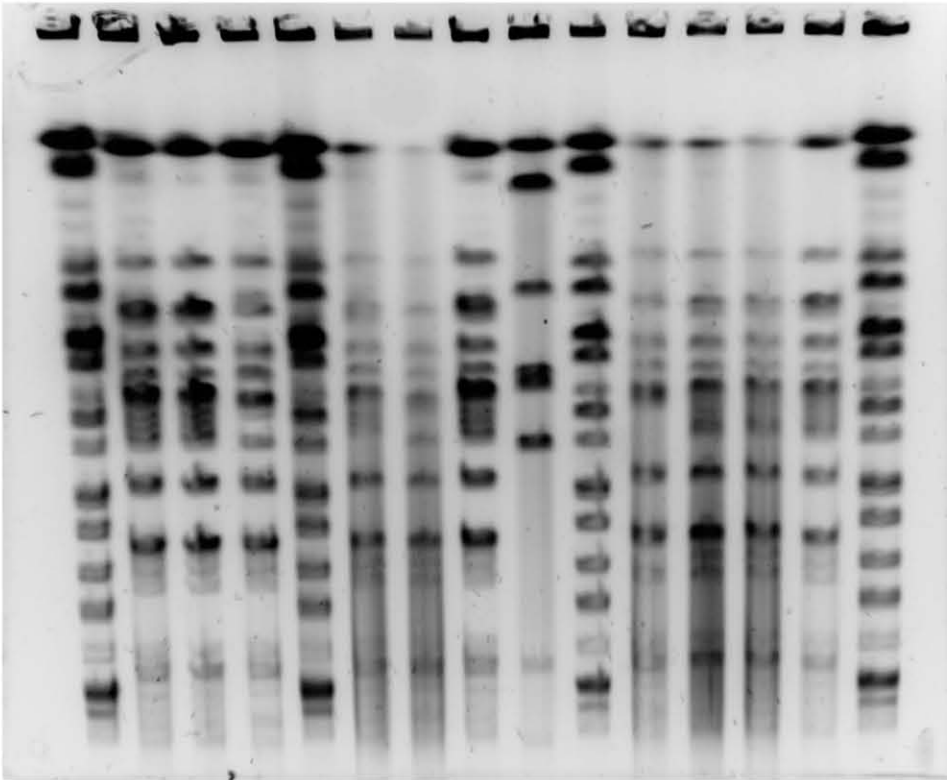


Figura 1. Electroforesis en Gel por Campos Pulsados de *Burkholderia cepacia* (digerida con SpeI) aisladas de casos en los servicios clínicos del HGMGG. M: Marcador de peso molecular *Salmonella* Branderup H9812 digerida con XbaI.

M 598 649 650 M 810 855 869 882 M 885 887 888 893 M

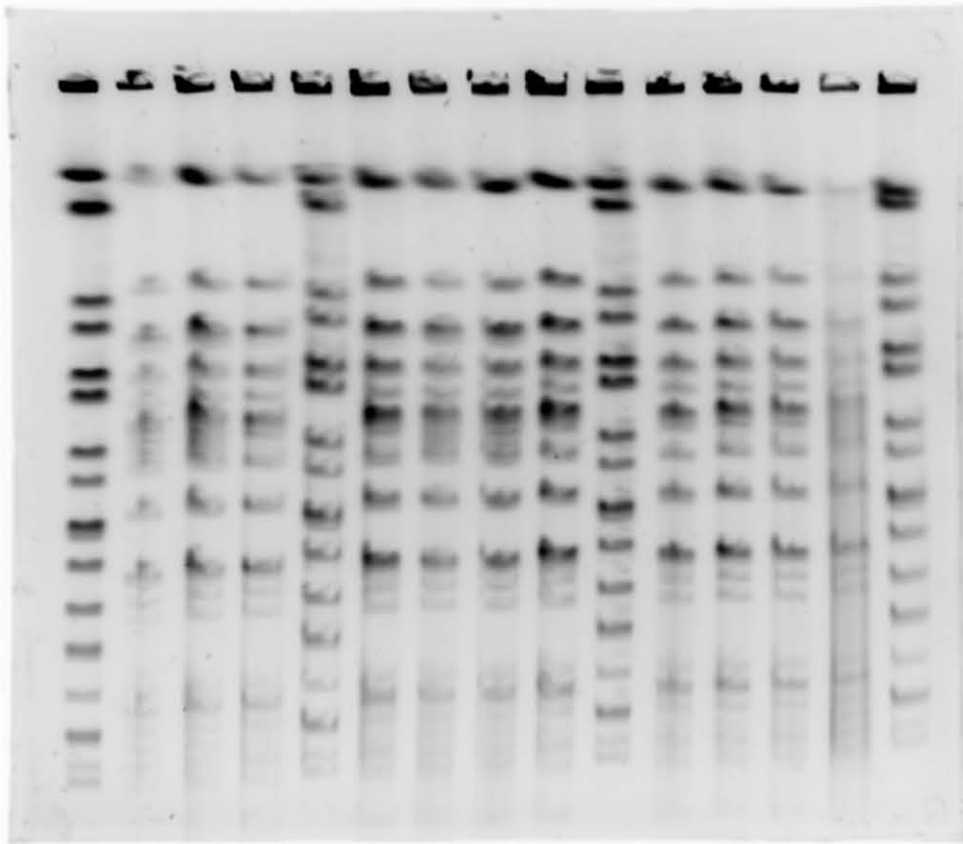


Figura 2. Electroforesis en Gel por Campos Pulsados de *Burkholderia cepacia* (digerida con SpeI) aisladas de casos en los servicios clínicos del HGMGG. M: Marcador de peso molecular *Salmonella* Branderup H9812 digerida con XbaI.

M 894 896 899 M 900 902 905 937 M 689 886 903 901 M

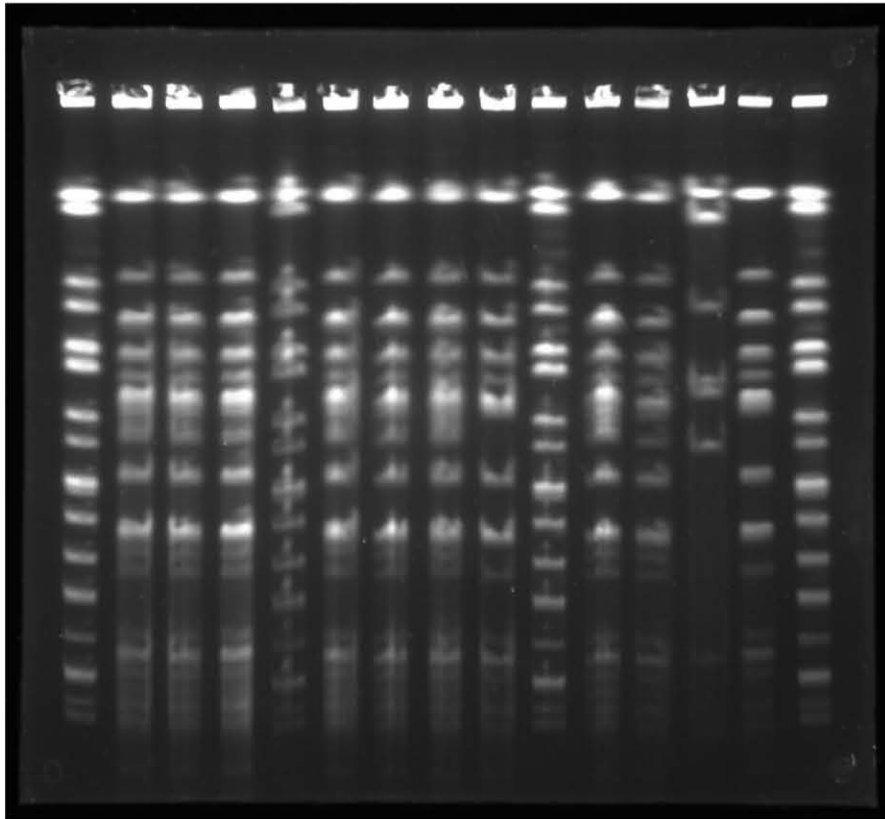


Figura 3. Electroforesis en Gel por Campos Pulsados de *Burkholderia cepacia* (digerida con SpeI) aisladas de casos en los servicios clínicos del HGMGG. M: Marcador de peso molecular *Salmonella* Branderup H9812 digerida con XbaI.

RESUMEN

La infección por el complejo *Burkholderia cepacia* (BCC) es de adquisición principalmente intrahospitalaria, con mayor frecuencia en pacientes críticamente enfermos sometidos a procedimientos invasivos. Se presenta con gran repercusión a nivel de salud e incrementa los costos de atención hospitalaria ya que se considera un microorganismo oportunista, de difícil manejo y con resistencia a una amplia gama de antibióticos. El tratamiento oportuno, dependiendo de los patrones de sensibilidad de cada institución, mejora las posibilidades de supervivencia. En nuestro país los estudios de brotes por BCC en unidades pediátricas son limitados, por lo que se desconoce la magnitud del daño real.

OBJETIVOS. Este estudio epidemiológico determina las características moleculares del complejo *Burkholderia cepacia* en cepas aisladas en pacientes hospitalizados en UCIN y UTIP durante noviembre del 2010 a octubre 2011 en el Hospital General “Dr. Manuel Gea González”; así mismo se describen las características clínicas de los pacientes infectados y/o colonizados por el BCC. **MÉTODOS.** Se revisaron los expedientes clínicos de 14 niños críticamente enfermos, sin fibrosis quística y con aislamientos con BCC en veinticuatro diferentes especímenes clínicos. Se establecieron las características clínicas y factores de riesgo que comparten los casos. Posteriormente se realizó la caracterización molecular de las cepas mediante Electroforesis en gel por campos pulsados (PFGE). **RESULTADOS.** Los pacientes estudiados estuvieron hospitalizados en unidades de terapia intensiva con estancias prolongadas y sometidos a procedimientos invasivos tales como la ventilación mecánica y cateterización venosa central, urinaria, SNG, NPT, nebulizador, transfusiones sanguíneas y cirugías; que en su mayoría fueron relacionados con la gravedad de la enfermedad subyacente. La PFGE de las diferentes cepas, determinó que todas las cepas presentaron un mismo perfil genético, por lo que se consideraron como una misma clona. Se puede deducir que el mismo microorganismo circulando en un área clínica tiene un origen común. Debido a que no se tomaron muestras de ambiente y personal de salud no se pudo determinar el origen o vehículo del microorganismo causante del brote. **CONCLUSIONES.** Con la presencia del brote descrito en este estudio y confirmado mediante biología molecular se considera a *Burkholderia cepacia* como un patógeno que debe ser vigilado. La detección precoz y la implementación oportuna de medidas de control de infecciones son cruciales para el éxito en la contención nosocomial de una epidemia. La adecuada higiene de manos es la actividad más importante en el control y prevención de la transmisión de los microorganismos.

Palabras clave. Complejo *Burkholderia cepacia*, brote, infecciones por *Burkholderia*, infección nosocomial.

1. INTRODUCCION

El complejo *Burkholderia cepacia* (BCC), es un devastador patógeno pulmonar en los pacientes con Fibrosis Quística (FQ) y enfermedad granulomatosa crónica (EGC). También se ha reportado como causa de bacteremia en pacientes con largas estancias hospitalarias sobre todo en unidades de cuidados intensivos, portadores de catéteres permanentes, ventilación mecánica, enfermedad crónica o alguna disfunción inmunológica. Este microorganismo puede prosperar en una amplia gama de ambientes; sobrevive y se multiplica en entornos hospitalarios acuosos, en las que puede persistir durante largos períodos de tiempo.

Los sistemas comerciales automatizados para identificación de patógenos y sensibilidad antimicrobiana permiten determinar fenotípicamente las cepas de un brote a nivel de especie. La identificación de BCC en el laboratorio clínico representa una problemática ya que no es un único fenotipo sino un complejo de por lo menos diez especies genéticamente separadas. Por lo que se recomienda que cuando se utilizan aparatos comerciales de identificación de cepas de BCC, los resultados deben confirmarse con la realización de pruebas bioquímicas complementarias o por métodos moleculares.^[1]

La disponibilidad de estas pruebas de diagnóstico rápido y preciso para la identificación de genomovares, ha permitido establecer que las diferencias regionales pueden estar presentes en la distribución epidemiológica de BCC.^[2]

La electroforesis en gel de campo pulsado de fragmentos de ADN cromosómico es el estándar de oro para tipificar genotípicamente las clonas de BCC en estudios de vigilancia epidemiológica, ya que compara la similitud cromosómica entre los aislamientos confirmando la existencia de un brote.

La mayoría de las infecciones nosocomiales ocurren en forma endémica. La cuestión central de un estudio epidemiológico es determinar si una serie de aislamientos bacterianos ha ocurrido coincidentalmente o como resultado de transmisión persona a persona. Diferentes estudios de brotes hospitalarios por BCC hacen uso de la

epidemiología analítica con una investigación preliminar y estudio descriptivo seguidos de un estudio comparativo (casos y controles o cohorte retrospectivo) e investigaciones definitivas (identificación del agente patógeno en todos los casos).

BCC ha emergido como una causa importante de morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados en gran medida debido a la alta resistencia a antibióticos; de ahí la importancia de la detección oportuna en brotes de este patógeno y la instalación de prácticas para el control de infecciones que incluye precauciones de contacto pues se ha comprobado que estas medidas son útiles para limitar la transmisión de las clonas virulentas de BCC.

En nuestro país los estudios sobre BCC en brotes en unidades pediátricas es limitado, por lo que se desconoce la magnitud real de este microorganismo en brotes intrahospitalarios.

El objetivo de la Tesis fue determinar las características moleculares del complejo *Burkholderia cepacia* en cepas aisladas en los servicios clínicos de la subdirección pediátrica del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”; así como describir las características clínicas de los pacientes infectados y/o colonizados por el BCC.

En el capítulo I: Planteamiento del problema, objetivos y justificación de la investigación.

En el capítulo II: Fundamentos Teóricos, que sirven de sustento teórico a la investigación.

En el capítulo III: Metodología empleada, se describe el tipo y diseño de investigación, métodos y materiales empleadas, variables y descripción de los procedimientos.

En el capítulo IV: Presentación, análisis e interpretación de resultados, se expone a manera de tablas y gráficos los resultados de la aplicación de los instrumentos de investigación, se realiza el análisis e interpretación por variables.

Finalmente se realiza las conclusiones y recomendaciones lo cual constituye el aporte de este trabajo de investigación.

2. ANTECEDENTES

∞ 2.1 Taxonomía

Actualmente se reconocen 4 bacilos Gram negativos fermentadores resistentes a múltiples antibióticos. Estos son *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii calcoaceticus*, *Stenotrophomonas maltophilia* y el complejo *Burkholderia cepacia* (BCC).^[4]

BCC son bacilos Gram negativos, aerobios, productores de catalasa móviles no fermentadores. Su periodo de incubación es de 1 a 21 días con media de 9 días.

En 1950, William Burkholder, un microbiólogo estadounidense describió a *Pseudomonas cepacia* como agente causal de la pudrición bacteriana de bulbos de cebolla en la Universidad de Cornell. En 1992, *P. cepacia* y otras seis especies pertenecientes al grupo II fueron trasladados al nuevo género *Burkholderia*, nombre dado en honor a su descubridor.^{[5],[6]} A diferencia de los géneros *Pseudomonas*, el género *Burkholderia* pertenece a la subdivisión del filo *Proteobacteria*. Las especies de *Burkholderia* poseen genomas muy grandes que van de 6 a 9 Mb de tamaño. Todas las especies también separan este ADN en dos o más replicones cromosómicos que pueden añadir mayor flexibilidad en la adquisición, la pérdida y expresión de genes. Su clasificación ha sufrido cambios taxonómicos considerables en las últimas dos décadas. En base a los análisis fenotípicos y genotípicos, BCC se divide actualmente en 10 especies genómicas.^[7]

El término genomovar se introdujo para denotar especies genómicas fenotípicamente similares y en la actualidad, los genomovares son reconocidos como nuevas especies. Recientemente, siete nuevas especies, *B. latens*, *B. diffusa*, *B. arboris*, *B. seminalis*, *B. metallica*, *B. contaminans* y *B. sabiae*, se han propuesto como miembros de la BCC.^{[8],[9]}

Diversidad actual del complejo *Burkholderia cepacia* (BCC)

Especie	Genomovar
<i>Burkholderia cepacia</i>	I
<i>Burkholderia multivorans</i>	II
<i>Burkholderia cenocepacia</i> IIIA	III
<i>B. cenocepacia</i> IIIB	III
<i>B. cenocepacia</i> IIIC	III
<i>B. cenocepacia</i> IIID	III
<i>Burkholderia stabilis</i>	IV
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	V
<i>Burkholderia dolosa</i>	VI
<i>Burkholderia ambifaria</i>	VII
<i>Burkholderia anthina</i>	VIII
<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	IX
<i>Burkholderia ubonensis</i>	X
Grupo K	

Tomado de: E. Mahenthiralingam, et, al. *Burkholderia cepacia* complex bacteria: opportunistic pathogens with important natural biology.^[7]

∞ 2.2 Epidemiología

Las bacterias BCC se distribuyen ampliamente; se encuentran con más frecuencia en las raíces de las plantas, el suelo y los ambientes húmedos. La capacidad de BCC para causar enfermedad no se limita al huésped humano, ya que estas bacterias también son importantes patógenos de las plantas.^[10] Además, BCC puede tener propiedades comerciales útiles y se han utilizado en la agricultura como agentes de control biológico y en la biorremediación de agentes tóxicos.^{[10],[11]} A diferencia de *P. aeruginosa* que puede colonizar aproximadamente un 10% de los seres humanos, las bacterias BCC todavía no se

han recuperado de fuentes humanas que no sean los sitios de infección. Por lo tanto, en ausencia de transmisión interpaciente, el medio ambiente natural es el reservorio de la infección BCC.^[7]

La disponibilidad de pruebas de diagnóstico rápido y preciso para la identificación de genovares ha permitido un análisis exhaustivo de la prevalencia de las diferentes especies de BCC. *B. cenocepacia* y *B. multivorans* son más predominantes entre los pacientes con FQ en países como Estados Unidos, Canadá, Italia y Australia.^{[12],[13],[14]} Algunas cepas de *B. cenocepacia* son altamente transmisibles y resistentes a casi todos los antibióticos. Aproximadamente un tercio de los pacientes infectados desarrollara el "síndrome *cepacia*". También se asocia con bacteremia en adultos sin FQ en estado crítico. Estas observaciones sugieren un tropismo de este organismo a la lesión pulmonar crónica.

Desde el año 2000, la infección por *B. multivorans* ha sido el más frecuente entre la población con FQ del Reino Unido, lo que indica que las diferencias regionales pueden estar presentes en la distribución epidemiológica de la BCC.^[15] Para los aislamientos recuperados de infecciones oportunistas en pacientes sin FQ, *B. cenocepacia* IIIA, ha sido el genovar más dominante en términos de cifras totales.^[7]

Las cepas de *B. cenocepacia* tipo IIIB representan el 75% de todos los aislamientos en EE.UU; sin embargo, las cepas de tipo IIIA son más frecuentes en Canadá y Europa.^{[7],[16]} La distribución de genovares BCC indica la presencia de cepas epidémicas con factores de virulencia y transmisibilidad. Hasta el momento, los dos siguientes elementos genéticos se han identificado que están asociados con la propagación de la epidemia: *cbIA*, un gen que codifica una proteína para la producción de los pilis, y *esmR* detectada sólo en cepas *B. cenocepacia*. Las secuencias *cbIA* y *esmR* pueden ser codificados en una región cromosómica que es inestable en algunas cepas epidémicas de *B. cenocepacia*^{[17],[18]} En contraste con *B. cenocepacia*, el contacto interpaciente ha sido reportado como el mecanismo más probable de propagación de las infecciones, el modo de transmisión de la infección por *B. multivorans* no se ha determinado.^[19]

Las cepas ambientales pueden jugar un papel fundamental en la epidemiología de infecciones BCC y podría explicar la adquisición a pesar de las medidas de control de la infección.^[20] En contraste con algunos informes que abogan por la identificación del gen *cbIA* como un medio para influir en las estrategias de control de infecciones, la ausencia de estos marcadores de algunas cepas epidémicas indica que los marcadores *cbIA* y *esmR* pueden no ser indicadores fiables de transmisibilidad.^{[21],[22]}

Es interesante que entornos industriales también parezcan ser propensos a la contaminación con bacterias BCC. La contaminación con bacterias BCC también se puede producir en la industria del petróleo y el combustible, lo cual no es sorprendente, dado que estas bacterias son capaces de crecer en una amplia gama de sustratos de hidrocarburos;^[23] lo que demuestra claramente la versatilidad notable de este grupo de bacterias para sobrevivir y crecer en ambientes muy diversos.^[7]

∞ 2.3 Espectro clínico

Los pacientes con FQ y EGC tienen predisposición a la infección por bacterias BCC, siendo cada vez más reconocido como un patógeno importante de los seres humanos, tanto en pacientes inmunocomprometidos y hospitalizados que están infectadas por contacto con material contaminado durante la hospitalización.

Pacientes con Fibrosis Quística

La colonización microbiana crónica de las vías respiratorias, lo que lleva a las exacerbaciones de las infecciones pulmonares, es la principal causa de morbilidad y mortalidad en los pacientes con FQ. *Staphylococcus aureus* y *P. aeruginosa* son los agentes etiológicos primarios de infección pulmonar en pacientes con FQ. Como la esperanza de vida ha aumentado en estos pacientes, BCC se ha convertido en un importante patógeno; la colonización por estas bacterias pueden persistir durante meses o incluso años. Sin embargo una minoría de los pacientes adolescentes y adultos jóvenes con FQ presenta "síndrome cepacia". El paciente puede desarrollar bacteremia y morir dentro de

los 6 meses. Otros pacientes con FQ pueden estar infectados con BCC y sin presentar cambios en el estado clínico.^{[7],[24]} En general, al igual que muchos otros patógenos oportunistas, parece que la enfermedad grave y la muerte, dependen del estado clínico y la predisposición de los individuos con CF en el momento de la infección. Los resultados clínicos pueden variar en gran medida entre los pacientes con CF infectados con la misma cepa.^{[19],[25]}

Pacientes sin Fibrosis Quística

Las infecciones por BCC en pacientes inmunocompetentes se presentan esporádicamente, pero se han reportado varios casos de pseudoepidemias e infecciones nosocomiales, a menudo causada por los desinfectantes contaminados y soluciones antisépticas. Los factores de riesgo asociados incluyen, hospitalización prolongada con estancias entre 22 y 27 días y que fueron tratados previamente con antibióticos de amplio espectro, como las fluoroquinolonas y la ceftazidima.^{[6],[24],[26],[27]} La ventilación mecánica es un factor de riesgo importante para la adquisición respiratoria de *B. cepacia*. Puede ocurrir la colonización orofaríngea durante la intubación, por pobre reflejo de la tos, y la inhalación directa de aerosoles contaminados en el tracto respiratorio inferior. La bacteremia, generalmente se ha relacionado con el uso de catéteres, pacientes con cáncer y pacientes sometidos a hemodiálisis.^[28]

La infección de tejidos blandos y la piel, pueden ocurrir en pacientes con quemaduras o heridas quirúrgicas. Infecciones del tracto genitourinario causadas por BCC se han reportado después de la instrumentación uretral, después de la biopsia prostática transrectal o través de la exposición a soluciones contaminadas.^[24]

∞ 2.4 Brotes

La mayoría de las infecciones nosocomiales ocurren en forma endémica y como casos aislados. Tan solo el 5% de estas infecciones corresponde a brotes que usualmente son pequeños (2 a 3 pacientes). La cuestión central de un estudio epidemiológico es

determinar si una serie de aislamientos bacterianos ha ocurrido coincidentalmente o como resultado de transmisión persona a persona.^[29]

Los brotes de BCC han sido documentados en unidades de cuidados intensivos, unidades oncológicas y renales, hasta en un 88%.^[1] Se han reportado brotes procedentes de diversas fuentes, tales como nebulizadores contaminados, solución de clorhexidina, enjuague bucal libre de alcohol, nebulizaciones con Salbutamol, tintes utilizados para la alimentación enteral, el agua del grifo, agua embotellada, cosméticos, pañales, aerosoles nasales.^{[6],[14],[24]} Se ha identificado a geles lubricantes contaminados como fuente común de brotes tal es el caso del hospital Pediátrico de Toronto que durante 10 años presentó infecciones nosocomiales por BCC relacionadas al uso de geles para ultrasonido contaminados.^[30]

Se estima que la mortalidad en pacientes con bacteremia por *B. cepacia* es del 39 al 47% de ahí la importancia de la detección oportuna en brotes de este patógeno y la instalación de prácticas para el control de infecciones.^[31]

∞ 2.5 Diagnóstico

En los laboratorios clínicos de rutina, la identificación de aislamientos de BCC se realiza generalmente mediante la combinación de medios selectivos, análisis bioquímico convencional y/o sistemas comerciales. Tres medios son comúnmente utilizados: el agar *P. cepacia* (PCA), agar polimixina bacitracina lactosa (OFPBL), y más recientemente agar selectivo para *B. cepacia* (BCSA) (que contiene 1% de lactosa y 1% de sacarosa en una base enriquecida de caseína y extracto de levadura con 600 U de polimixina B por ml, 10 g de gentamicina por ml y 2,5 g de vancomicina por ml).^{[6],[32]} Una comparación de los tres medios, revelaron un rendimiento superior de la BCSA; ya que es más selectivo, actúa por suprimir el crecimiento de bacterias no BCC. Para ayudar a los laboratorios de diagnóstico de rutina, los autores han descrito los métodos para identificar BCC por reacciones bioquímicas convencionales con la infraestructura y los recursos disponibles, lo cual podrá ser acreditado por métodos moleculares para la identificación de especies.^[33]

Sistemas automatizados de identificación

Los miembros de BCC pueden ser identificados por pruebas comerciales disponibles, tales como API 20NE, Phoenix, MicroScan o Vitek. La identificación mediante kits comerciales y los sistemas automatizados no es infalible, ya que otras especies de bacterias se confunden con algunas cepas de BCC como *P. aeruginosa*. Se ha reportado una tasa de error de identificación global del 11% de los aislamientos identificados como BCC por los laboratorios de referencia. Los laboratorios que están identificando tentativamente especies de *Burkholderia* utilizando un sistema automatizado deben confirmar con el crecimiento de la bacteria en medios BCSA, pruebas bioquímicas convencionales y técnicas moleculares en caso de ser necesario.^{[6],[32],[33]}

Identificación molecular

Desde su descripción inicial en 1983, la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) de fragmentos de ADN cromosómico es el estándar de oro para tipificar genótipicamente las clonas de *B. cepacia* en estudios de vigilancia epidemiológica¹⁷, ya que compara la similitud cromosómica entre los aislamientos confirmando la existencia de un brote.^{[3],[34]}

Empleando PFGE, en un estudio francés confirmó genótipicamente un brote por *B. cepacia* en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos cuya transmisión fue interpaciente a través de dispositivos de terapia respiratoria.^[35] Por otro lado, en Australia se descartó la transmisión persona-persona de *B. cepacia* en pacientes con fibrosis quística al determinar que se trataba de cepas genótipicamente distintas.^[34]

Otras técnicas utilizadas para discriminar más allá del nivel de las especies incluyen, análisis de restricción, ADN polimórfico amplificado al azar y BOX-PCR. Una técnica relativamente nueva que está teniendo realce en los métodos de tipificación bacteriana es la tipificación por secuencia multilocus (MLST). MLST proporciona información altamente discriminatoria de secuenciación de genes que se pueden compartir y comparar fácilmente entre laboratorios.^[36]

∞ 2.6 Terapia

Un problema importante en la terapia de los pacientes infectados por BCC es la resistencia del organismo a diversos antimicrobianos y la falta de nuevos antibióticos eficaces. BCC es intrínsecamente resistente a los aminoglucósidos, cefalosporinas de primera y segunda generación, penicilinas antipseudomonas y polimixinas. BCC a menudo desarrolla resistencia a β -lactámicos debido a la presencia de β -lactamasas y una alteración de las proteínas de unión a la penicilina. La resistencia a carbapenémicos se ha informado tan alta como 48-89% en infecciones nosocomiales en pacientes con fibrosis quística.^{[6],[32]}

En aislamientos iniciales, el organismo puede ser susceptible a trimetoprim-sulfametoxazol y β -lactámicos antipseudomonas. Sin embargo, bajo la presión antimicrobiana, la resistencia se desarrolla rápidamente y los médicos con frecuencia se enfrentan al reto en la terapia de un paciente infectado con un organismo. Algunos antibióticos, como la ceftazidima, ciprofloxacina y carbapenémicos muestran actividad *in vitro* contra BCC. De acuerdo con las directrices de CLSI 2010, los fármacos recomendados contra la BCC son ceftazidima, minociclina, meropenem y cotrimoxazol.^{[6],[32]} Se ha reportado éxito del tratamiento con combinaciones farmacológicas tales como meropenem con ciprofloxacino y tobramicina; así como ceftazidima y tobramicina. Nebulizaciones adicionales de agentes antimicrobianos tales como meropenem o tobramicina ha sido reportado igualmente eficaces.^[6] Recientemente, Doripenem parece tener un buen potencial terapéutico contra BCC.^[37]

∞ 2.7 Prevención y control

Los pacientes pueden adquirir BCC ya sea desde el medio ambiente o a través de la transmisión interpaciente.^{[7],[38]} BCC ha generado una considerable ansiedad entre los pacientes con FQ y ha conducido al desarrollo de procedimientos estrictos de control de la infección.^[39] Medidas profilácticas aceptadas incluyen (a) empleo adecuado de antibióticos, sobre todo los de uso crítico como la ciprofloxacina, cefepima e imipenem, (b) la higiene de manos estricta y la institución de las técnicas de barrera para los

pacientes colonizados o infectados (c) vigilancia entre los pacientes con fibrosis quística y la identificación de potenciales reservorios nosocomiales tales como el sistema público de agua, agua potable disponible en el mercado, el desagüe del fregadero y el equipo médico. La educación de los pacientes y trabajadores de la salud es una piedra angular de las medidas preventivas. La implementación de estas medidas de control de infecciones tiene un tremendo impacto en la vida de los pacientes.

∞ 2.8 Marco Teórico

Christopher W. Woods, et al. 2004. ^[40] Investigaron 53 pacientes con bacteremia por el complejo *B. cepacia*. Los casos potenciales de bacteremia por el complejo *B. cepacia* se determinó mediante la revisión de los registros de todos los hemocultivos positivos en el período de mayo 1996 a mayo 2002 en el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Universidad de Duke Medical Center (Durham, Carolina del Norte). Se realizó identificación bioquímica y determinación de concentración mínima inhibitoria y posteriormente la electroforesis en gel por campos pulsados para la caracterización de las cepas.

Se encontró que 25 pacientes (47%) murieron dentro de 14 días del inicio de la bacteremia. La edad de los pacientes osciló entre 24 días y 82 años (media 46,4 años). Predominantemente mujeres (55%) y de raza blanca (71%). 41 casos (77%) fueron atendidos en una unidad de cuidados intensivos y la duración media de hospitalización al desarrollo de la bacteremia fue de 22 días. 9 pacientes (17%) tenían fibrosis quística y fueron significativamente menos propensos a morir dentro de los 14 días del inicio de la bacteremia que el resto de la cohorte (tasa de letalidad [CFR], 11% vs 55%; RR, 0,51; CI, desde 0,34 hasta 0,76) del 95%. Es posible que estos pacientes sin FQ tuvieran menos probabilidad de haber sido previamente colonizados por *B. cepacia* y por lo tanto tener anticuerpos preexistentes.

Además de tener enfermedades graves, la mayoría de los pacientes tenían significativa morbilidad subyacente o factores de riesgo, incluyendo trasplantes de médula ósea o trasplantes de órganos sólidos. Cuarenta y un pacientes (77%) se habían sometido

recientemente cirugía. Cuarenta y dos pacientes (79%) estaban recibiendo soporte ventilatorio mecánico, y 23 (43%) se habían sometido a traqueostomía en el momento de la bacteremia. Sin embargo ninguno de estos factores se asoció con la mortalidad.

Los pacientes con bacteremia primaria tuvieron significativamente peores resultados que los pacientes con una fuente conocida de infección (generalmente pulmonar) (CFR, 70% vs 33%; RR, 2,22, IC 95%, 1,09-4,52). Cuarenta y cinco pacientes (85%) tuvieron una fiebre documentada y 20 (38%) cumplieron con la definición de shock séptico. Sin embargo, sólo la persistencia de fiebre por 17 días se asoció con un mayor riesgo de muerte (RR, 2,80, IC, 1,24-6,33) 95%.

Cincuenta pacientes (94%) tenían catéteres venosos centrales dentro de 2 semanas antes o en el momento de la bacteremia. La eliminación de las líneas centrales o cambio dentro de los 7 días después de la bacteremia se asoció con reducción de la mortalidad (CFR, 32% vs 68%; RR, 0,46, IC 95%, 0,23-0,94).

Cuarenta y siete pacientes (89%) recibieron antibióticos dentro de las 2 semanas antes de bacteremia; 31 (58%) recibieron 1 antibiótico sensible para el aislamiento. El inicio de la terapia con trimetoprim-sulfametoxazol después del aislamiento de *B. cepacia* a partir de sangre se asoció con una reducción de mortalidad (RR, 0,62, IC 95%, 0,39 hasta 0,98). Cuarenta y cuatro aislamientos (83%) fueron sensibles a trimetoprim-sulfametoxazol, el fármaco habitual de elección. Los aislamientos de 17 pacientes (32%) con bacteremia fueron resistentes a múltiples fármacos. Esto corresponde a que la eliminación de todas las líneas venosas centrales y el inicio de tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol, especialmente cuando *B. cepacia* se sospecha, pueden estar justificados en la espera de la identificación final y las pruebas de sensibilidad.

La especiación molecular demostró que *B. cenocepacia* (genomovar III) representó el 39 (74%) de 53 casos de *B. cepacia* y 21 (84%) de las 25 muertes. *B. cenocepacia* se asoció con un mayor riesgo de mortalidad en relación con otros genomovares (CFR, 54% vs 29%; RR: 1,55; CI, 0,96-2,49) 95%. El resto de los casos represento principalmente casos esporádicos.

El estudio demostró una fuerte asociación entre bacteremia causada por 2 cepas del brote de *B. cenocepacia* y un mayor riesgo de mortalidad a los 14 días (odds ratio, 5,5; intervalo de confianza del 95%: 1,20 a 25,02).

B. cenocepacia es un patógeno nosocomial emergente, difícil de tratar ya que a menudo es resistente a múltiples antibióticos. Ciertas cepas se asocian con una mayor capacidad para la propagación entre pacientes y un peor pronóstico.

Murat Dizbay y cols, 2009.^[41] Realizaron un estudio retrospectivo en un hospital universitario de Ankara, Turquía; entre enero de 2003 y diciembre de 2007. Se incluyeron todos los registros de los pacientes con infecciones nosocomiales debido a *B. cepacia*. Esta bacteria fue aislada de diversas muestras clínicas de 48 pacientes. Sólo 39 de ellos (81,2%) fueron aceptadas como agente causal de la infección nosocomial. La incidencia de las infecciones nosocomiales por *B. cepacia* fue muy baja en este hospital (0,26 por 1000 admisiones); pero con una tasa bruta de mortalidad hasta del 53.8%.

La razón hombre/mujer fue de 1,29 con media de 54,4 años \pm 23,4 años (mediana 54 años). La duración de la hospitalización fue de 15,2 \pm 9,9 días

(Mediana de 15 días). El uso de antibióticos previo debido a diversas infecciones se observó en sólo 15 (38,5%) de los pacientes. Estas infecciones se observaron sobre todo en unidades de cuidados intensivos (61,5%). La infección más frecuente fue neumonía (58,9%); y (64.1%) fueron sometidos a ventilación mecánica. Las infecciones del torrente sanguíneo, relacionados a colocación de catéter fue el segundo más común (25,6%). Los agentes antimicrobianos más activos fueron la piperacilina-tazobactam, cefoperazona-sulbactam y carbapenémicos.

Los factores de riesgo más frecuentes en estos pacientes fueron procedimientos invasivos tales como la ventilación mecánica y cateterización venosa central y urinaria, que en su mayoría fueron relacionados con la gravedad de la enfermedad subyacente.

En conclusión, la incidencia de las infecciones nosocomiales por *B. cepacia* fue poco frecuente en este hospital. No se detectó ningún brote durante el período de estudio,

debido probablemente a la detección oportuna de los casos y toma de medidas epidemiológicas para contención de la transmisibilidad.

K. Kuzumoto y cols, 2011. ^[42] Describen las infecciones por el complejo *B. cepacia* en la UCIN del Hospital de niños de Nagano, Japón; e informan las intervenciones que condujeron al cese exitoso del brote. La incidencia de aislamiento y susceptibilidad antimicrobiana de *B. cepacia* durante un período de cuatro años fueron examinados retrospectivamente mediante electroforesis en gel de campos pulsados junto con la examinación bacteriológica de los desinfectantes que se utilizan en los dispositivos y procedimientos habituales en la UCIN. Durante el período de estudio entre 2007 y 2009, sólo una cepa de *B. cepacia* por año fue recuperado de cada recién nacido en la UCIN. Sin embargo, en 2010, se aislaron 6 cepas de *B. cepacia*. Estos aislamientos mostraron los mismos patrones de electroforesis en gel de campos pulsados, lo que indica fuertemente que el origen de la infección fue a través de la misma práctica médica o por la transmisión del mismo contaminante. Como conclusiones un pequeño brote por el complejo *B. cepacia* se produjo en la UCIN en 2010, que parece estar asociado con la misma clona de *B. cepacia*. El origen de la ruta de la infección se desconoció a pesar de la repetida investigación epidemiológica. Es de notar que ningún brote por *B. cepacia* se observó en la UCIN después de la vigilancia extensa.

Cynthia A. Lucero, et al. 2011. ^[43] Investigaron un grupo de pacientes pediátricos ventilados colonizados por *B. cepacia* así mismo se estudiaron muestras tomadas del ambiente en el periodo comprendido entre el 2005 y 2007 en Atlanta, EUA. Se aislaron muestras de 16 pacientes; 2 del drenaje, y varios de componentes del ventilador. Los aislamientos clínicos y ambientales fueron comparados mediante electroforesis en gel de campos pulsados. Se encontró que pertenecen a un único clon *B. cenocepacia*. La revisión de control de la infección reveló fallas en enfermería y procedimientos de terapia respiratoria y subóptima adhesión a la higiene de manos y a las precauciones de aislamiento. El agua usada para el cuidado oral y de traqueostomía de los pacientes se identificó como el mecanismo más probable para la transmisión. La presencia de *B.*

cenocepacia aisladas de componentes de ventiladores se considero un medio adicional de transmisión.

C. Doit, et al. 2004. ^[44] Describen un brote nosocomial de bacteremia por *B. cepacia* durante 7 meses (octubre de 2001 y abril de 2002), en tres salas de un hospital pediátrico de Paris. Participaron ocho niños en los resultados de las investigaciones epidemiológicas. Una cepa de *B. cepacia* genotípicamente idéntica fue identificada en los hemocultivos; la cual se recuperó de la superficie de los tapones de goma de botellas comerciales usadas en las emulsiones lipídicas de las nutriciones parenterales.

Chawki Loukil, et al. 2003. ^[45] Realizaron una investigación epidemiológica de una epidemia por *B. cepacia* en 2 salas (UCIN y UTIP), del Hospital Robert Debré en París, Francia, durante un período de 35 meses. Entre diciembre de 1998 y octubre de 2001, 32 niños fueron colonizados (n = 14) o infectados (n = 18) por *B. cepacia*. La colonización se definió por la presencia de *B. cepacia* en muestras clínicas, y que no cumplen criterios para infección. Catorce niños tuvieron infección respiratoria definida por criterios clínico-radiológicos, incluyendo el aislamiento de *B. cepacia* en CSB. Cuatro niños tuvieron bacteremia. La colonización o infección fue considerado intrahospitalario, al menos, 48 horas después de la admisión.

Se revisaron los registros de microbiología del hospital y se recuperaron 29 muestras clínicas (28 de CSB y 1 catéter venoso central), correspondientes a 28 pacientes con comorbilidades previas. La hospitalización duró 2 semanas a 18 meses (media de 102 días). Durante el período del brote, se recogieron 10 muestras ambientales de productos antisépticos, dispositivos de terapia respiratoria, incubadoras, agua del grifo y el desagüe del fregadero en la UTIP y UCIN. Cinco aislamientos fueron recuperados del esputo de pacientes con fibrosis quística en otros hospitales y fueron incluidos en el análisis genotípico para la comparación. Se observaron los procedimientos para el uso, mantenimiento y desinfección de los aparatos de terapia respiratoria en la UTIP. Se revelaron deficiencias en la desinfección del equipo.

Se encontró 9.8 pacientes colonizados o infectados por cada 1.000 pacientes durante el brote. Se utilizó la ribotipificación para determinar el genotipo de *B. cepacia*. Siete

diferentes perfiles bioquímicos se obtuvieron con los 39 aislamientos y de las 5 cepas de control relacionados.

Se concluyó que en la UTIP, la transmisión fue interpaciente, apoyado esto ya que todos los pacientes presentaron colonización o infección del tracto respiratorio al menos 72 horas después del inicio de ventilación mecánica, y las cepas fueron genéticamente relacionados. Las cepas aisladas de los 4 pacientes de la UCIN presentaron ribotipos idénticos no relacionados con la de la epidemia de la UTIP, lo que sugiere una organización independiente del brote. No se determinó la fuente de transmisión en UCIN.

Los estudios epidemiológicos han utilizado con éxito el análisis de ADN para determinar la relación de las cepas. La electroforesis en gel por campos pulsados y la ribotipificación han sido con éxito utilizados para investigar los brotes de *B. cepacia*. La ribotipificación ha demostrado que proporciona datos de igual discriminación y buena correlación que con la electroforesis en gel por campos pulsados.

Cardoso Hernández Gabriel, et al. 2007. ^[46] Este estudio describe las manifestaciones clínicas y analiza los factores de riesgo potenciales en un periodo de cinco años de Bacteremia por *B. cepacia*. Métodos: estudio de casos y controles que analiza 80 casos de BN por *B. cepacia* comparados con 80 controles. Se analizaron características clínicas, de laboratorio, factores de riesgo, así como resistencia antimicrobiana y desenlace. Resultados: No se encontraron características clínicas y de laboratorio específicas. La manifestación focal más frecuente fue neumonía en 24 casos, con el antecedente en 19 (79%) de estar intubados al menos 24 horas antes del aislamiento. Se identificó la fuente de la bacteremia por aislamiento microbiológico en 39 (48.7%) pacientes, siendo la vía respiratoria el sitio más frecuente. Los casos se presentaron en el sexo masculino en 62.5% y femenino 37.5%; como patología de base, la malformación congénita 47.5% fue la más predominante, enfermedad hematológica 27.5%, neoplasia 13.75%. Recibieron NPT 35% (Días 11.86 ±10). Sometidos a cirugía en el 50%, abdominal 23.75%, torácica 15%, intubación 22.%, CVC 81.25% (Días 33.9±100). Los casos por *B. cepacia* predominaron en áreas de cuidados críticos (61,8%) y en pacientes intubados (69.2%); con hospitalizaciones

prolongadas (18.4 ± 19). La mayoría de las cepas fueron sensibles a trimetoprima-sulfametoxazol (93,7%) y a meropenem (91,2%); menos de la mitad a ceftazidima (47,5%), a imipenem (38,7%) y a ciprofloxacino (18,7%). La evolución fue favorable en 74 pacientes (84,5%) con una mortalidad global del 7,5%.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las características moleculares del complejo *Burkholderia cepacia* aisladas de casos en los servicios clínicos de la Subdirección de pediatría del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”?

Los reportes que existen actualmente sobre brotes por el complejo *Burkholderia cepacia* (BCC) a nivel intrahospitalario son muy escasos y sobre todo la confirmación mediante biología molecular. En el Hospital General “Dr. Manuel Gea González” (HGMGG), tiene bajo resguardo 24 muestras de cepas de esta bacteria aisladas en casos presentados en el período 2010-2011 en los servicios clínicos de la subdirección pediátrica; sobre las cuales se realizó el presente estudio.

4. JUSTIFICACION

Las infecciones por BCC en pacientes con fibrosis quística, granulomatosis crónica o inmunocompromiso en países desarrollados; es un problema de salud pública que se le ha dado gran importancia por las consecuencias tanto de salud y económicas que implica. Estos países cuentan con datos que aproximan a conocer la situación real y les permite tener mayor control en las infecciones de ésta naturaleza y evitar mayor daño en los pacientes.

En la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos (UTIP) y Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) del HGMGG durante el periodo que comprende 2010-2011 se aislaron 24 cepas del complejo *Burkholderia cepacia* de diferentes muestras clínicas, que corresponden a 14 pacientes. Se utilizaron técnicas fenotípicas a nivel de especie lo que nos hace sospechar fuertemente la presencia de un brote sin confirmarlo. Desde entonces este patógeno ha sido causa de vigilancia estrecha para la detección de brotes y control de su transmisión.

El sistema automatizado del laboratorio de bacteriología del HGMGG, permite la identificación de cepas de BCC; a este nivel únicamente se establece la probabilidad de un

brote. Actualmente para confirmar la existencia de un brote debe documentarse la transmisión interpaciente de clonas bacterianas genotípicamente idénticas mediante Electroforesis en Gel por Campos Pulsados (PFGE).

En nuestro país los estudios sobre BCC en brotes en unidades pediátricas es limitado, por lo que se desconoce la magnitud real de este microorganismo en brotes intrahospitalarios, por este motivo se realizó la identificación molecular de los aislamientos de BCC de nuestras unidades pediátricas mediante PFGE.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo principal.

Determinar las características moleculares del complejo *Burkholderia cepacia* en cepas aisladas en los servicios clínicos de la subdirección pediátrica del HGMGG.

5.2 Objetivo secundario.

Describir las características clínicas de los pacientes infectados y/o colonizados por el complejo *Burkholderia cepacia*.

6. MATERIAL Y METODOS

6.1 Tipo de Investigación

Epidemiológica.

6.2 Diseño de Investigación

Diseño. Descriptivo

Conocimiento que tienen los investigadores de los factores del estudio. Abierto

Participación del investigador. Observacional

Tiempo en que suceden los eventos. Retroprolectivo (2010-2011)

Relación que guardan entre sí los datos. Transversal

6.3 Criterios de selección de la muestra

Criterios de Inclusión.

- Cultivo con aislamiento de BCC almacenados y congelados a -70°C.
- Expedientes de pacientes pediátricos, de cualquier género, hospitalizados en los servicios clínicos de la subdirección pediátrica del HGMGG durante el periodo de estudio; y que presentaron al menos un cultivo con aislamiento positivo de BCC.

Criterios de eliminación.

- Todas aquellas cepas de BCC que durante el proceso de descongelamiento no se pudo recuperar el material genético.

6.4 Identificación de Variables

Se registraron variables cuantitativas y cualitativas para descripción del brote. Se midieron las variables comparativas de exposición. Estas se establecieron con base en lo descrito en diversos estudios de brotes por BCC adaptadas a las características de las terapias pediátricas del HGMGG.

VARIABLES INDEPENDIENTES (VI): Sexo

Días de estancia intrahospitalaria

Enfermedad de base

Distermia

Inmunocompromiso

Estado Nutricional

Procedimientos invasivos

Muestra clínica de aislamiento

VARIABLES DEPENDIENTES (VD): Electroforesis en Gel por Campos Pulsados

VI		VD	
Variable	Escala (intervalo, ordinal, nominal)	Variable	Escala (intervalo, ordinal, nominal)
Sexo	Nominal: masculino, femenino.	Electroforesis en gel por campos pulsados de BCC	Nominal: Clonas iguales (Si, No). Una solo cepa: perfiles de bandas de los fragmentos de restricción idénticos. Cepas estrechamente relacionadas (Si, No): diferencias de dos a tres bandas. Clonas diferentes (Si, No). Cepas no relacionadas: diferencia de 7 o más bandas
Días de estancia hospitalaria	Intervalo: número de días.		
Enfermedad de base	Nominal: Neumopatía (Si, No) Cardiopatía (Si, No) IRA (Si, No) Enf. Neurológica (Si, No) Prematurez (Si, No) Otra (Si, No)		
Distermia	Nominal: Hipertermia (Si, No) Hipotermia (Si, No)		
Inmunocompromiso	Nominal: (Si, No)		
Estado Nutricional	Nominal: Desnutrición GI (Si, No) Desnutrición GII (Si, No) Desnutrición GIII (Si, No) Eutrofico (Si, No) Sobrepeso (Si, No) Obesidad (Si, No)		
Procedimientos invasivos	Nominal: Dispositivo intravascular (Si, No) Intubación endotraqueal (Si, No) Cirugía abdominal (Si, No) Traqueotomía (Si, No) Broncoscopia (Si, No) Diálisis peritoneal (Si, No) Transfusión sanguínea (Si, No) Sonda urinaria (Si, No) Sonda gástrica (Si, No) Nutrición Parenteral (Si, No) Colocación de sonda pleural (Si, No) Nebulizaciones (Si, No) Otro (Si, No)		
Muestra clínica de aislamiento:	Nonimal: Sangre (Si, No) Secreción bronquial (Si, No) Orina (Si, No) LCR (Si, No) Líquido pleural (Si, No) Líquido peritoneal (Si, No) Líquido pericardio (Si, No) Líquido articular (Si, No) Diálisis (Si, No) Heces fecales (Si, No) Otros (Si, No)		

6.5 Tamaño de la muestra

Universo de estudio.

- Cepas de BCC congeladas a menos 70°C en el Departamento de Ecología y Agentes Patógenos del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.
- Expedientes de los pacientes en los que se aisló BCC y que estuvieron hospitalizados en los servicios clínicos de la subdirección pediátrica en el período 2010-2011.

Es una muestra por conveniencia. Se analizaron 24 muestras de cepas de BCC, que corresponden a 14 pacientes, aisladas en el período 2010-2011 en los servicios clínicos de la subdirección pediátrica.

6.6 Descripción de procedimientos

Se realizó un estudio descriptivo para establecer la existencia de brotes por BCC, presentación de casos en corto periodo de tiempo, ubicación de todos los casos en la subdirección pediátrica del HGMGG y descripción de los factores de riesgo que comparten los casos.

Para definir los casos del brote se revisaron los expedientes clínicos de todos los pacientes en los que se encontró BCC aisladas en muestras. Se recolectaron datos demográficos, clínicos, de laboratorio y procedimientos invasivos del expediente clínico. (Anexo 1) Posteriormente se definió como caso a los pacientes con cuadro clínico compatible de infección y/o colonización por BCC. La información se introdujo en una base de datos para ser analizada. El objetivo de este estudio fue recuperar las cepas del agente patógeno para confirmar la existencia real de un brote al comparar las clonas de cada caso mediante PFGE; de ser genéticamente iguales, confirman la transmisión hospitalaria interpaciente.

Identificación Bioquímica y determinación de concentración mínima inhibitoria

El laboratorio de bacteriología del HGMGG procesa los hemocultivos de *B. cepacia* a través de sistemas de detección microbiana por visualización directa o automatizado Bact/ALERT seguido de paneles comerciales de identificación bacteriana y sensibilidad antimicrobiana Dade Microscan Negative Combo Panel N44; Dade Behring.

Los paneles de MicroScan están diseñados para determinar la sensibilidad a agentes antimicrobianos y/o la identificación a nivel especie de bacilos gram negativos aerobios y anaerobios facultativos. La identificación se basa en la detección de cambios de pH, utilización de sustratos y crecimiento en la presencia de agentes antimicrobianos al cabo de 16 a 42 horas de incubación a 35°C. Se ha observado que Autoscan-4, un lector automático en el sistema MicroScan identifica correctamente el 95.4% de los miembros de las enterobacterias (las lecturas falsas negativas ocasionales para reacción de sulfuro de hidrógeno y arginina hidrolasa son las bioquímicas que conducen a una identificación errónea). Una desventaja es que el instrumento señala a veces un biotipo “muy raro”. Cuando esto ocurre, se emplea el programa Biotype Lookup que traduce los resultados de las pruebas bioquímicas incluidas en los paneles gram negativos en un número de 8 dígitos; posteriormente enumera las probabilidades relativas hasta un total acumulado de 99.9%, para determinar la identificación final.

La sensibilidad se determina comparando la concentración mínima inhibitoria (CIM) de un microorganismo con el nivel antimicrobiano que puede alcanzarse en sangre o en orina. Los resultados de concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) obtenidas con este sistema muestran hasta el 97% o más de similitud con el método de la CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute).

Los aislamientos de BCC se obtuvieron del banco de cepas del Departamento de Ecología de Agentes Patógenos de este hospital, los cuales se encontraban almacenados y congelados a -70°C. Cada aislamiento fue descongelado y re-sembrado en agar MacConkey, incubado a 37°C por 24 horas en una atmósfera de aerobiosis. Posteriormente los aislamientos se conservaron a 4°C hasta la realización de los PFGE en la

Facultad de Medicina de Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la Dra. Gabriela Delgado.

Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE)

La transmisión horizontal de las cepas se realizó mediante la digestión con enzimas de restricción de corte raro mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE). Las cepas se colocaron en bloques de agarosa de acuerdo al método descrito en el PulseNet (www.pulsenetinternational.org), y se lisaron *in situ* con lisozima y proteinasa K (20mg/ml), posteriormente se les realizó una digestión del ADN cromosomal con endonucleasas de corte raro (*SpeI*, Boehringer, Mannheim) y corridas en el equipo CHEF- Mapper apparatus (Bio-Rad, Hercules, CA). Como marcador de peso molecular se utilizará DNA cromosomal digerido con *XbaI* de *Salmonella* Braederup⁶. Cada uno de los perfiles fue visualizado y comparado uno con otro después de ser corridos en un gel de agarosa al 1% (Seakem Gold agarose), y teñido con bromuro de etidio. Las condiciones de electroforesis a 12°C, 6 Vcm⁻¹ y 120°, por 19h, con tiempo de pulsos rampeados de 16s to 54.17s. El análisis de los perfiles se llevó a cabo utilizando el programa Bioimage band analyzer software. Los aislamientos fueron considerados como una solo cepa si los perfiles de bandas de los fragmentos de restricción fueron idénticos. Si se observan diferencias de dos a tres bandas se interpreta como cepas estrechamente relacionadas y como cepas no relacionadas cuando muestren una diferencia de 7 o más bandas de acuerdo al criterio de Tenover, *et al.* 1995.^[47]

6.1 Análisis Estadístico

Se utilizó estadística descriptiva: medidas de tendencia central y dispersión: rango, media, mediana, moda, desviación estándar, proporciones o porcentajes.

7. RESULTADOS

Análisis descriptivo de algunas de las variables de riesgo de los pacientes.

Variable	Media	DE	Mínimo	Máximo
Peso (grs)	5.8	8.2	1.200	33.700
Talla(cm)	55.8	18.2	42	114
DEIH(días)	47.6	28.2	8	102
Días del ingreso al aislamiento	14.6	10.1	3	37
CVC (días)	34	18	8	73
VM(días)	21.2	14.1	6	49
SU(días)	10.5	7.3	1	25
SNG(días)	38.4	26.1	5	88
NPT(días)	22.7	16.5	2	56
NB(días)	31.3	25.7	3	89
HT	4	3	0	11
ANTIB(días)	17.0	5.2	10	28

DE. Desviación estándar; DEIH. Estancia intrahospitalaria; CVC. Catéter venoso central; VM. Ventilación mecánica; SU. Sonda urinaria; SNG. Sonda nasogástrica; NPT. Nutrición parenteral total; NB: Nebulizador; HT. Hemotrasfusiones; ANTIB. Antibióticos.

Se analizaron un total de 24 muestras de diferentes especímenes clínicos, que corresponden a 14 pacientes hospitalizados durante el periodo de estudio (2010-2011). Un expediente no se recupero del archivo por lo que se excluyó del análisis estadístico. 18 aislamientos se presentaron en cultivos de secreciones bronquiales (75%), 3 aislamientos corresponden a hemocultivos (12.5%), 1 aislamiento de urocultivo (4.1%), 1 aislamiento (4.1%) a cultivo de punta de catéter, y 1 aislamiento (4.1%) a coprocultivo.

En 7 casos (53.84%) se presentaron en menores de 1 mes (RN), 5 casos (38.46%) en lactantes, y solo 1 paciente (7.69%) en etapa preescolar. 10 casos (76.92%) corresponden al sexo masculino y solo 3 (23.07%) al sexo femenino, señalando que un expediente se excluyo por extravió. (Gráfico I) Los pacientes presentaron un peso con media de 5.8 Kg, DE 8.2 (mín. 1.200, máx. 33.700) y talla con media de 5.8 cm, DE 18.2 (mín. 42, máx. 114). (Gráfico II).

Todos los pacientes estuvieron hospitalizados en unidades de terapia intensiva; 11 de los casos (84.61%) se presentaron en la UTIP y solo 2 casos (15.38%) en la UCIN. Cabe destacar que aunque la mayoría de los casos reportados se hayan presentado en recién nacidos (53.84%), estos provenían del ambiente extrahospitalario por lo que a su ingreso se les asigna en la UTIP; ya que solo los nacimientos intrahospitalarios ingresan a UCIN. La mayoría de los pacientes tuvo estancia hospitalaria prolongada con una media de 47.6 días, DE 28.2 (mín. 8, máx. 102). La duración media de hospitalización al aislamiento de las cepas fue de 14.6 días, DE 10.1 (mín. 3, máx. 37). (Gráfico III)

El 100% de los pacientes estuvo sometido a procedimientos invasivos. Todos los pacientes requirieron instalación de catéter venoso central con una media de 34 días, DE 18 (mín. 8, máx. 73). (Gráfico IV) Los cuales se colocaron en venas umbilicales en recién nacidos y por punción en lactantes. Debe señalarse que en los servicios clínicos de la subdirección de pediatría de este hospital se recambian los catéteres cada 15 días desde su inserción. Asimismo el 100% de los pacientes requirió Ventilación Mecánica Invasiva, con una media de 21.2 días, DE 14.1 (mín. 6, máx. 49). (Gráfico V) Instalación de Sonda Urinaria, con media de 10.5 días, DE 7.3 (mín. 1, máx. 25). (Gráfico VI) Sonda Nasogástrica con media de

38.4 días, DE 26.1 (mín. 5, máx. 88). (Gráfico VII) Nutrición Parenteral Total con media de 22.7 días, DE 16.5 (mín. 2, máx. 56). (Gráfico VIII). Nebulizador con media 31.3 días, DE 25.7 (mín. 3, máx. 89). (Gráfico IX). Transfusiones sanguíneas con media de 4, DE 3 (mín. 0, máx. 11). (Gráfico X).

Siete pacientes (53.84%) se sometieron a alguna cirugía torácica o abdominal durante la estancia intrahospitalaria. Solo 1 paciente (7.69%) presentó traqueostomía, 1 paciente (7.69%) se sometió a diálisis peritoneal, 1 paciente (7.69%) requirió sonda pleural y un 1 (7.69%) punción lumbar.

Respecto a comorbilidades, 5 de los pacientes (38.46%) presentaron prematuridad, 2 pacientes (15.38%) neumopatía y cardiopatía; el resto de los pacientes sin comorbilidades previas. Cabe comentar que ninguno de los pacientes tratados en estas unidades tenían diagnóstico previo de Fibrosis quística.

Siete de los pacientes (61.53%) presentaron peso bajo para edad gestacional y desnutrición grado I, 1 paciente (7.69%) sobrepeso, y 1 paciente (7.69%) obesidad; el resto fueron eutróficos. Se considero inmunocomprometidos (61.53%) a los pacientes prematuros que además presentaban peso bajo para edad gestacional y a los que presentaban desnutrición. Al ingreso los pacientes no tenían diagnóstico de algún tipo de inmunocompromiso primario o secundario.

Todos los pacientes estuvieron sometidos a algún tipo de terapia antibiótica por lo menos una semana antes del desarrollo de la infección o colonización por BCC. 7 pacientes (53.84%) se consideraron infectados por BCC ya que presentaron datos de respuesta inflamatoria sistémica por lo que se les dio valor al aislamiento y se modifico la terapia antibiótica. La colonización se definió por la presencia de *B. cepacia* en muestras clínicas, y que no cumplen criterios para infección; 6 pacientes (46.15%) no presentaron datos clínicos asociados al aislamiento por lo que no se le dio valor y no se modifico la terapia. 76.92% de los pacientes presentaron fiebre documentada. La infección más frecuente fue de origen pulmonar en 75% de los pacientes probado por la presencia de datos clínicos,

radiológicos y aislamiento en cultivo de secreción bronquial; la infección del torrente sanguíneo fue el segundo más común en 18.75% de los pacientes.

A los pacientes que se les modificó la terapia recibieron tratamiento sensible con una media de 17 días, DE 5.2 (mín. 5.2, máx. 28). Los antibióticos que reportaron sensibilidad se encuentran el Trimetoprim-Sulfametoxazol en 94.73%, Meropenem en 89.47%, Levofloxacin en 84.21%, Ceftazidima solo en 23.07%. (Tabla 1)

Respecto a la mortalidad, solo 2 pacientes (15.38%) fallecieron y 11 pacientes (84.61%) egresaron por mejoría clínica de los servicios.

Se realizó la electroforesis en campos pulsados utilizando la enzima de restricción *SpeI* a las 24 cepas de *B. cepacia* y los perfiles fueron analizados mediante el programa Bioimage band analyzer software. La descripción de cada perfil se realizó mediante los criterios de Tenover, *et al.* 1995^[47], así los aislamientos fueron considerados como una sola cepa si los perfiles de bandas de los fragmentos de restricción fueron idénticos. Si se observan diferencias de dos a tres bandas se interpreta como cepas estrechamente relacionadas y como cepas no relacionadas cuando muestren una diferencia de 7 o más bandas. Después de analizar las 24 cepas se determinó que mostraban un perfil único, por lo que se identificaron como una misma clona (Figuras 1, 2 y 3).

8. DISCUSION

Este estudio describe las características clínicas, factores de riesgo y características moleculares potenciales de 14 niños críticamente enfermos, sin fibrosis quística y con aislamientos con *B. cepacia* durante noviembre del 2010 a octubre 2011.

BCC es un bacilo gram negativo ampliamente distribuido en la naturaleza, que puede sobrevivir por periodos prolongados en ambientes húmedos. Como patógeno intrahospitalario se han reportado fuentes de infección mediante soluciones desinfectantes, medicamentos, geles lubricantes y nutrición parenteral contaminados.

Los pacientes estudiados estuvieron hospitalizados en unidades de terapia intensiva (UCIN y UTIP) con estancias prolongadas y sometidos a procedimientos invasivos tales como la ventilación mecánica y cateterización venosa central, urinaria, SNG, NPT, nebulizador y transfusiones sanguíneas, cirugías; que en su mayoría fueron relacionados con la gravedad de la enfermedad subyacente. Estos factores de riesgo se han descrito en diferentes series Christopher W. Woods, et al. 2004; Murat Dizbay et al. 2009; Cardoso Hernández Gabriel, et al. 2007.

El 61.53% se consideraron inmunocomprometidos ya que presentaban prematuridad o algún grado de desnutrición. El 53.84% se consideraron infectados y 46.15% colonizados. La infección más frecuente fue de origen pulmonar en 75%, seguida de la infección del torrente sanguíneo en 18.75%; esta situación ha sido descrita por Murat Dizbay, et al 2009.

Todos los pacientes fueron sometidos a algún esquema antibiótico antes del desarrollo de la infección. Los antibióticos que reportaron sensibilidad se encuentran el Trimetoprim-Sulfametoxazol en 94.73%, Meropenem en 89.47%, Levofloxacino en 84.21%, El TMP-SMZ como fármaco de elección. Este esquema de tratamiento ya se ha descrito en otras series con resultados satisfactorios (Christopher W. Woods, et al. 2004; Murat Dizbay et al. 2009; Cardoso Hernández Gabriel, et al. 2007). Respecto a la mortalidad, solo 2 pacientes

(15.38%) fallecieron y 11 pacientes (84.61%) egresaron por mejoría clínica de los servicios, debido probablemente a la establecimiento de tratamiento oportuno.

Mediante la electroforesis en campos pulsados se determino que todas las cepas presentaron un mismo perfil genético, por lo que se consideraron como una misma clona, la presencia de una sola clona generando este tipo de infecciones nosocomiales ha sido reportado por K. Kuzumoto y cols, 2011. y Cynthia A. Lucero, et al. 2011. En este sentido se puede inferir que al tener el mismo microorganismo circulando en un área clínica se tiene un origen común, que debido a que no se tomaron muestras de ambiente y personal de salud no se pudo determinar la fuente o vehículo del microorganismo causante del brote. Sin embargo se llevaron acciones tales como revisión de las medidas de antisepsia y desinfección de los servicio para realizar los cambios necesarios; así como capacitación y vigilancia de medidas de prevención.

Hay pocas series con descripción molecular respecto al complejo *Burkholderia cepacia*, sin embargo podemos inferir que el genotipo más predominante en nuestro medio es *Burkholderia cepacia* (I).

Con la presencia del brote descrito en este artículo y confirmado mediante biología molecular se considera a *B. cepacia* como un patógeno que debe ser vigilado estrechamente a fin de implementar medidas de prevención de contacto inmediatamente cuando se presente un nuevo caso.

9. CONCLUSIONES

La infección por BCC es de adquisición principalmente hospitalaria, con mayor frecuencia en pacientes graves sometidos a procedimientos invasivos, con gran repercusión a nivel de salud e incremento de los costos de atención hospitalaria por ser un microorganismo oportunista, de difícil manejo y con resistencia a una amplia gama de antibióticos. El tratamiento oportuno, dependiendo de los patrones de sensibilidad de cada institución, mejora las posibilidades de sobrevida de estos pacientes.

La disponibilidad de los métodos de caracterización molecular es de gran valor potencial en la determinación de la filogenia de las bacterias a partir de un supuesto brote. PFGE sigue siendo el método de elección para identificar y comparar diferentes cepas entre las técnicas epidemiológico moleculares utilizados ya conduce a la identificación y determinación de la fuente de brote. Los perfiles de campos pulsados de las cepas de *B. cepacia* realizados en este estudio determinaron que el brote fue causado por una sola cepa.

La detección precoz de los pacientes colonizados o infectados y la rápida aplicación de las medidas de control de infecciones son cruciales para el éxito en la contención nosocomial de una epidemia. La adecuada higiene de manos es la actividad más importante en el control y prevención de la transmisión de los organismos.

Anticipamos que las medidas para prevención de epidemias no requieren mucho esfuerzo extra y que las observaciones y los resultados descritos en este documento pueden ayudar al desarrollo racional de más estrategias de control de infecciones para contener los reservorios de las bacterias Gram-negativas multirresistentes.

9. PERSPECTIVAS

De este trabajo se desprende una perspectiva fundamental, y es tomar muestras del ambiente y del personal de salud oportunamente para poder identificar el origen o fuente de contaminación. De igual manera se recomienda utilizar material desechable o de fácil desinfección en las terapias y llevar a cabo capacitación y vigilancia de medidas de prevención continúa.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Winn WC, Koneman EW, Allen SD, et al. Bacilos gran negativos no fermentadores. En: Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas en color. Ed Panamericana, 2006:310-312.
2. V Gautam, L Singhal, P Ray. *Burkholderia cepacia* complex: Beyond *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. Indian Journal of Medical Microbiology 2011; 29 (1), 4-14.
3. Centers of Disease Control. Steps of an outbreak investigation In: www.cdc.gov/excite/classroom/outbreak/steps.htm 24/julio/2010.
4. Slama TG. Gram-negative antibiotic resistance: there is a price to pay. Crit Care Med 2008;12:4-11.
5. Bulkholder W. Sour skin, a bacterial rot of onion bulbs. Phytopathology 1950; 40:115-B.
6. LiPuma JJ CB, Lum GD, Vandamme PAR. Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Cupriavidus, Pandoraea, Brevundimonas, Comamonas and Acidovorax. In: Murray PR BE, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, editors. Manual of clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press; 2007. 749-69.
7. Mahenthiralingam E, Baldwin A, Dowson CG. Burkholderia cepacia complex bacteria: opportunistic pathogens with important natural biology. J Appl Microbiol 2008;104:1539-51.
8. Sousa SA, Ramos CG, Leitao JH. Burkholderia cepacia complex: emerging multihost pathogens equipped with a wide range of virulence factors and determinants. Int J Microbiol 2011. pii: 607575.
9. Waine DJ, Henry DA, Baldwin A, Speert DP, Honeybourne D, Mahenthiralingam E, et al. Reliability of multilocus sequence typing of the *Burkholderia cepacia* complex in cystic fibrosis. J Cyst Fibros 2007;6:215-219.
10. Holmes A, Govan J, Goldstein R. Agricultural use of *Burkholderia* (*Pseudomonas*) *cepacia*: a threat to human health? Emerg Infect Dis 1998;4:221-227.
11. LiPuma JJ, Mahenthiralingam E. Commercial use of *Burkholderia cepacia*. Emerg Infect Dis 1999;5:305-306.
12. LiPuma JJ, Spilker T, Gill LH, Campbell PW 3rd, Liu L, Mahenthiralingam E. Disproportionate distribution of *Burkholderia cepacia* complex species and transmissibility markers in cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 2001;164:92-96.
13. Mahenthiralingam E, Urban TA, Goldberg JB. The multifarious, multireplicon *Burkholderia cepacia* complex. Nat Rev Microbiol 2005;3:144-156.

14. Reik R, Spilker T, Lipuma JJ. Distribution of *Burkholderia cepacia* complex species among isolates recovered from persons with or without cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2005;43:2926-2928.
15. Govan JR, Brown AR, Jones AM. Evolving epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* and the *Burkholderia cepacia* complex in cystic fibrosis lung infection. *Future Microbiol* 2007;2:153-164.
16. Speert DP, Henry D, Vandamme P, Corey M, Mahenthalingam E. Epidemiology of *Burkholderia cepacia* complex in patients with cystic fibrosis, Canada. *Emerg Infect Dis* 2002;8:181-187.
17. Mahenthalingam E, Simpson DA, Speert DP. Identification and characterization of a novel DNA marker associated with epidemic *Burkholderia cepacia* strains recovered from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1997;35:808-816.
18. Mahenthalingam E, Bischof J, Byrne SK, Radomski C, Davies JE, Av-Gay Y, *et al.* DNA-Based diagnostic approaches for identification of *Burkholderia cepacia* complex, *Burkholderia vietnamiensis*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia stabilis*, and *Burkholderia cepacia* genomovars I and III. *J Clin Microbiol* 2000;38:3165-3173.
19. Govan JR, Brown PH, Maddison J, Doherty CJ, Nelson JW, Dodd M, *et al.* Evidence for transmission of *Pseudomonas cepacia* by social contact in cystic fibrosis. *Lancet* 1993;342:15-19.
20. Lipuma JJ. Preventing *Burkholderia cepacia* complex infection in cystic fibrosis: is there a middle ground? *J Pediatr* 2002;141:467-469.
21. Coenye T, Lipuma JJ. Population structure analysis of *Burkholderia cepacia* genomovar III: varying degrees of genetic recombination characterize major clonal complexes. *Microbiology* 2003;149:77-88.
22. Clode FE, Kaufmann ME, Malnick H, Pitt TL. Distribution of genes encoding putative transmissibility factors among epidemic and nonepidemic strains of *Burkholderia cepacia* from cystic fibrosis patients in the United Kingdom. *J Clin Microbiol* 2000;38:1763-1766.
23. O'Sullivan LA, Weightman AJ, Jones TH, Marchbank AM, Tiedje JM, Mahenthalingam E. Identifying the genetic basis of ecologically and biotechnologically useful functions of the bacterium *Burkholderia vietnamiensis*. *Environ Microbiol* 2007;9:1017-1034.
24. Maschmeyer G. Mandell: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone; 2009.
25. Ledson MJ, Gallagher MJ, Jackson M, Hart CA, Walshaw MJ. Outcome of *Burkholderia cepacia* colonisation in an adult cystic fibrosis centre. *Thorax* 2002;57:142-145.

26. Abe K, D'Angelo MT, Sunenshine R, Noble-Wang J, Cope J, Jensen B, *et al.* Outbreak of *Burkholderia cepacia* bloodstream infection at an outpatient hematology and oncology practice. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:1311-1313.
27. Bressler AM, Kaye KS, LiPuma JJ, Alexander BD, Moore CM, Reller LB, *et al.* Risk factors for *Burkholderia cepacia* complex bacteremia among intensive care unit patients without cystic fibrosis: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:951-958.
28. Murat Dizbay, Ozlem Guzel Tunccan, Busra Ergut Sezer, Firdevs Aktas, Dilek Arman. Nosocomial *Burkholderia cepacia* infections in a Turkish university hospital: a five-year surveillance. *J Infect Dev Ctries* 2009; 3(4):273-277.
29. Goering RV. Pulsed-field electrophoresis. In *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice*. American Society for Microbiology, 8th ed, 2004:185–196.
30. Jacobson M, Wray R, Kovach D, *et al.* Sustained endemic of *Burkholderia cepacia* complex in a pediatric institution, associated with contaminated ultrasound gel. *Infect Control Epidemiol* 2007; 27:362-366.
31. Woods CW, Bressler AM, Li Puma JJ, *et al.* Virulence associated with outbreak-related Straits of *Burkholderia cepacia* complex among a cohort of patients with bacteremia. *CID* 2004; 38:1243-1250.
32. The nonfermentative gram-negative bacilli. In: Winn W AS, Jande W, Koneman E, Procop G, Schrekernbenger P, Woods G, editors. *Koneman's Color Atlas and textbook of Diagnostic Microbiology*. Baltimore, USA: Lippincott Williams and Wilkins Publishers; 2006. pp. 303-391.
33. Gautam V, Ray P, Vandamme P, Chatterjee SS, Das A, Sharma K, *et al.* Identification of lysine positive non-fermenting gram negative bacilli (*Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia* complex). *Indian J Med Microbiol* 2009;27:128-133.
34. Ouchi K, Abe M, Karita M, *et al.* Analysis of Straits of *Burkholderia* (*Pseudomonas*) *cepacia* isolated in a nosocomial outbreak by a biochemical and genomic typing. *J Clin Microbiol* 1995, 33:2353–2357.
35. Segonds C, Bingen E, Couetdic G, *et al.* Genotypic analysis of *Burkholderia cepacia* isolates from 13 French cystic fibrosis centers. *J Clin Microbiol* 1997, 35: 2055–2060.
36. Baldwin A, Mahenthalingam E, Thickett KM, Honeybourne D, Maiden MC, Govan JR, *et al.* Multilocus sequence typing scheme that provides both species and strain differentiation for the *Burkholderia cepacia* complex. *J Clin Microbiol* 2005;43:4665-4673.

37. Chen Y, Garber E, Zhao Q, Ge Y, Wikler MA, Kaniga K, *et al.* *In vitro* activity of doripenem (S-4661) against multidrug-resistant gram-negative bacilli isolated from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:2510-2511.
38. Baldwin A, Mahenthalingam E, Drevinek P, Vandamme P, Govan JR, Waine DJ, *et al.* Environmental *Burkholderia cepacia* complex isolates in human infections. *Emerg Infect Dis* 2007;13:458-461.
39. Saiman L, Siegel J. Infection control in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:57-71.
40. Christopher W. Woods, Adam M. Bressler, John J. LiPuma, Barbara D. Alexander, Dennis A. Clements, David J. Weber, Christopher M. Moore, L. Barth Reller and Keith S. Kaye. Virulence Associated with Outbreak-Related Strains of *Burkholderia cepacia* Complex among a Cohort of Patients with Bacteremia. *Clinical Infectious Diseases* 2004; 38:1243–1250
41. Murat Dizbay, Ozlem Guzel Tunccan, Busra Ergut Sezer, Firdevs Aktas, Dilek Arman. Nosocomial *Burkholderia cepacia* infections in a Turkish university hospital: a five-year surveillance. *J Infect Dev Ctries* 2009, 3(4):273-277.
42. K. Kuzumoto, N. Kubota, K. Ishii, K. Yumoto, Y. Ogiso, T. Nakamura, *et al.* Infections due *Burkholderia cepacia* complex in a neonatal intensive care unit in Japanese children's hospital. *Eur J Med Res* 2011, 16: 537-542.
43. Cynthia A. Lucero, Adam L. Cohen, Ingrid Trevino, Angela Hammer Rupp, Michelle Harris, *et al.* Outbreak of *Burkholderia cepacia* complex among ventilated pediatric patients linked to hospital sinks. *Am J Infect Control* 2011;39:775-778.
44. C. Doit, C. Loukil, A.-M. Simon, A. Ferroni, J.-E. Fontan, S. Bonacorsi, *et al.* Outbreak of *Burkholderia cepacia* Bacteremia in a Pediatric Hospital Due to Contamination of Lipid Emulsion Stoppers. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 2227–2230.
45. Chawki Loukil, Carole Saizou, Catherine Doit, Philippe Bidet, Patricia Mariani-Kurkdjian, Yannick Aujard, François Beaufils, Edouard Bingen. Epidemiologic Investigation of *Burkholderia cepacia* Acquisition in Two Pediatric Intensive Care Units. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2003, 24: 707-710.
46. Cardoso Hernández Gabriel, De Colsa Ranero Agustín, Zepeda Orozco Gabriela, Arzate Barbosa Patricia, González Saldaña Napoleón. Manifestaciones clínicas y factores de riesgo para bacteremia por *Burkholderia cepacia* en niños. *Rev Enfer Infec Pediatr* 2007; XX(80): 92-98.
47. Govan JR, Hughes JE, Vandamme P. *Burkholderia cepacia*: medical, taxonomic and ecological issues. *J. Med Microbiol* 1996; 45:395-407.

12. ANEXOS

12.1. Hoja de recolección de datos

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA EL PROTOCOLO Caracterización molecular de *Burkholderia cepacia* aisladas de casos en los servicios clínicos de la Subdirección de Pediatría del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”

1. DATOS PERSONALES DEL PACIENTE:

NOMBRE _____ REGISTRO _____

EDAD _____ SEXO: 1. FEM 2. MASC

FECHA DE INGRESO _____ FECHA DE EGRESO _____

FECHA DE DETECCIÓN _____

DIAS DEL INGRESO AL DIAGNOSTICO _____

SERVICIO DE INGRESO:

1. Urgencias	2. Hospitalización	3. UTIP	
4. UCIN	5. Crecimiento y desarrollo	6. Otro	

DIAGNÓSTICO DE INGRESO: _____

DIAGNÓSTICOS DE EGRESO: _____

SERVICIO DE DIAGNÓSTICO:

1. Urgencias	2. Hospitalización	3. UTIP	
4. UCIN	5. Crecimiento y desarrollo	6. Otro	

CONDICIONES DEL EGRESO: 1. MEJORIA 2. FALLECIDO

FECHA DEL FALLECIMIENTO _____

CAUSA DEL FALLECIMIENTO _____

DEIH ESTANCIA EN UTIP

FECHA DE INGRESO A UTIP _____

PROCEDIMIENTOS INVASIVOS 1. SI 2. NO

COLOCACION DE CATETER 1. SI 2. NO

TIPO DE CATETER: 1. CENTRAL 2. PERIFERICO 3. OTRO

MATERIAL DEL CATETER: 1. POLIETILENO 2. METALICO 3. OTRO

METODO DE COLOCACION: 1. PUNCION 2. VENODISECCION

NUMERO DE DIAS CON EL CATETER _____

NUMERO DE RECAMBIOS DE CATETER _____

COLOCACION DE CANULA ENDOTRAQUEAL 1. SI 2. NO

FECHA DE INTUBACION _____

FECHA DE EXTUBACIÓN _____

SE REINTUBO 1. SI 2. NO

DIAS QUE DURO CON LA CANULA _____

NUMERO DE INTUBACIONES _____

CIRUGIA 1. SI 2. NO

NO.	FECHA DE LA CIRUGIA	TIPO DE CIRUGIA

COLOCACION DE TRAQUEOSTOMIA 1. SI 2. NO

FECHA DE REALIZACION _____

TIEMPO DESPUES A DESARROLLAR LA INFECCIÓN _____

REALIZACION DE DIALISIS PERITONEAL 1. SI 2. NO

FECHA DE REALIZACION _____

TIEMPO DESPUES A DESARROLLAR LA INFECCIÓN _____

TRANSFUSION SANGUINEA 1. SI 2. NO

FECHA DE REALIZACION _____

NUMERO DE TRANSFUSIONES _____

UTILIZO SONDA URINARIA 1. SI 2. NO

DIAS QUE DURO CON SONDA _____

UTILIZO SONDA NASOGASTRICA 1. SI 2. NO

DIAS QUE DURO CON SONDA _____

REQUIRIO ALIMENTACION PARENTERAL 1. SI 2. NO

DIAS QUE DURO CON ALIMENTACION PARENTERAL _____

COLOCACION DE SONDA PLEURAL 1. SI 2. NO

DIAS QUE DURO CON SONDA PLEURAL _____

REQUIRIO NEBULIZADOR 1. SI 2. NO

DIAS QUE REQUIRIO NEBULIZACIONES _____

ESTADO NUTRICIONAL:

1. DESNUTRICION: GI GII GIII

2. EUTROFICO 3. SOBREPESO 4. OBESIDAD

PESO (g) _____ TALLA (cm) _____

INMUNOCOMPROMISO 1. SI 2. NO

TIPO: 1. PRIMARIO 2. SECUNDARIO

SUBTIPO DE INMUNOCOMPROMISO:

1. CELULAR 2. HUMORAL COMBINADA

4. QUIMIOTERAPIA 5. ESTEROIDES 6. VIH OTRO

ENFERMEDAD CRONICA: 1. SI 2. NO

TIPO DE ENFERMEDAD CRONICA:

1. NEUMOPATIA		2. CARDIOPATIA		3. IRA	
4. ENF. NEUROLOGICA		5. PREMATUREZ		6. OTRA	

TIEMPO DE EVOLUCION _____

DISTERMIA:

1. HIPERTERMIA 2. HIPOTERMIA

AISLAMIENTO DE *B. cepacia*:

FECHA	AGENTE AISLADO	NO. DE AISLAMIENTOS
SENSIBILIDAD		
RESISTENCIA		

SE DIO VALOR AL AISLAMIENTO 1. SI 2. NO

SE MODIFICO LA TERAPIA 1. SI 2. NO

TRATAMIENTO PARA LA INFECCIÓN:

MEDICAMENTO	DOSIS	NO. DE DIAS CON TRATAMIENTO
-------------	-------	-----------------------------