

11219



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRAN**

**Caracterización de la flora que coloniza el tubo
digestivo de los pacientes con leucemia aguda
en un hospital de tercer nivel.**

**TESIS DE POSGRADO
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA
P R E S E N T A:**

Dra. Alejandra Ugarte Torres

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño

ASESORES DE TESIS:

**Dr. José Sifuentes Osornio
Dra. J. Miriam Bobadilla del Valle
Dra. Angelina Villasis Keever**



México, D.F. Octubre del 2004



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.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Alejandra Ugarte
Torres

FECHA: 7/ octubre/ 2004

FIRMA: 



INCMNSZ

INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION
"DR. SALVADOR ZUBIRAN"
DIRECCION DE ENSEÑANZA
México, D.F.


Dr. Luis Federico Uscanga Domínguez
Director de Enseñanza


Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño
Tutor Principal de Tesis


Dr. Guillermo Ruiz-Palacios y Santos
Profesor Titular del Curso



TUTORES

1. **Dr. Luis Alfredo Ponce de León Garduño** Departamento de Infectología del INCMNSZ. TUTOR PRINCIPAL.
2. **Dr. José Sifuentes Osornio.** Departamento de Infectología. INCMNSZ, ASESOR GENERAL.
3. **Dra. J. Miriam Bobadilla del Valle.** Laboratorio de Microbiología del INCMNSZ. ASESORA DE BIOLOGIA MOLECULAR.
4. **T.L.C.. Ana Lilia Rolón Montes de Oca.** Laboratorio de Microbiología del INCMNSZ. ASESORA DE MICROBIOLOGIA.
5. **Dra. Angelina Villasis Kever.** Departamento de Infectología del INCMNSZ. ASESORA DE ESTADÍSTICA.

INDICE

Índice.....	4
Introducción.....	5
Antecedentes.....	6
Hipótesis.....	19
Objetivos.....	20
Material y Métodos.....	21
Resultados.....	28
Discusión.....	33
Conclusiones.....	35
Tablas.....	37
Curvas de supervivencia.....	43
Bibliografía.....	45

INTRODUCCIÓN

Las infecciones en los pacientes neutropénicos se han mantenido como causa importante de morbilidad y mortalidad. Se conoce que cincuenta por ciento de los pacientes neutropénicos con fiebre tiene una infección oculta y por lo menos una quinta parte desarrollan bacteremia.^{1,2}

La microbiología de los gérmenes responsables de las bacteremias se ha modificado en los últimos 20 años. Inicialmente, las bacteremias eran causadas por gérmenes gramnegativos (enterobacterias y *Pseudomonas* sp)^{3,4}. Actualmente, los organismos más frecuentemente aislados son los cocos grampositivos. Sin embargo la mortalidad atribuible a las bacteremias sigue siendo mayor en los pacientes con gérmenes gramnegativos, la cual ha alcanzado hasta el 80%.

El principal sitio de origen de las bacteremias es el gastrointestinal. Además se ha descrito que los gérmenes grampositivos resistentes y *Pseudomonas* sp son los gérmenes capaces de ocasionar traslocación bacteriana desde el tubo digestivo hacia el torrente sanguíneo²². Con este antecedente se han probado diferentes esquemas de profilaxis, para la prevención de bacteremias en los pacientes neutropénicos. La profilaxis con quinolonas en estos pacientes disminuye los eventos febriles y el número de las bacteremias por gérmenes gram negativos, sin embargo no tiene impacto sobre la mortalidad y si se ha observado un incremento en la emergencia de gérmenes resistentes, de infecciones causadas por cocos gram-positivos y de colonización por hongos^{1,2}.

Conocer el comportamiento de la flora bacteriana normal del tracto gastrointestinal de los pacientes con leucemia durante su hospitalización, así como el uso de antibióticos para la prevención o tratamiento de infecciones durante la neutropenia grave, nos puede permitir predecir que tipo de gérmenes se encuentran asociados con las bacteremias que se presentan fuera del hospital y replantear estrategias de prevención más adecuadas en estos pacientes, donde el inicio temprano y adecuado de antibióticos tienen un impacto importante en la sobrevida.

ANTECEDENTES

1. Bacteremias en el paciente neutropénico.

Las bacteremias en los pacientes neutropénicos son una de las infecciones más frecuentemente relacionadas con mortalidad. Se han reportado una tasa de recuperación de gérmenes cultivados de sangre periférica de 20% en pacientes con neutropenia grave secundaria a quimioterapia.¹

Los gérmenes responsables de las bacteremias han cambiado sustancialmente en los últimos 20 años. En la década de los 70's y hasta los principios de los 90's los gérmenes gram negativos fueron los responsables del 60 a 70% de las bacteremias, principalmente por enterobacterias y *Pseudomonas sp.*^{3,4} Actualmente, se reporta que del 60 a 70% de las bacteremias son causadas por cocos gram positivos en pacientes con cáncer^{2,5,6} Sin embargo, existen algunos estudios recientes^{7,8} en donde la prevalencia de bacteremias por gérmenes gram positivos es similar a la de gram negativos, sobre todo en aquellos sitios en donde la profilaxis no se usa de forma rutinaria⁹.

Algunos de los factores que se proponen como responsables de este cambio hacia la mayor incidencia de infecciones por gram positivos incluyen: la mucositis oral asociada a los agentes antineoplásicos cada vez más potentes, la neutropenia más profunda y prolongada, el incremento en el uso de catéteres intravenosos, el empleo de profilaxis con fluoroquinolonas, el uso de antibióticos de amplio espectro y de antiácidos y de bloqueadores de receptores H₂ de histamina^{1,9}.

2. Origen de las bacteremias por gérmenes gram negativos de los pacientes neutropénicos.

En la mayoría de los pacientes neutropénicos, el origen de las bacteremias no es identificado. Por ello se ha postulado que los organismos gram negativos responsables provienen de la microflora endógena de cada paciente, principalmente a partir del tubo digestivo.¹⁰ Una de las primeras evidencias fue el estudio realizado por Tancrede¹¹ en 1984, en el que demostró la traslocación bacteriana de la flora gastrointestinal hacia el torrente sanguíneo. También demostró la asociación de la traslocación bacteriana con el grado de neutropenia y con la duración de la misma. El microorganismo más frecuente y abundante, en los coprocultivos, fue también el aislado clínico más común en las bacteremias, cuando la cuenta total de neutrófilos era menor de 100 cel/mm³. *P. aeruginosa* se aisló en sangre únicamente cuando se encontraba colonizando el intestino. Por otro lado, también en este estudio se demostró la asociación del uso de antibióticos con la colonización por *P. aeruginosa* y con ello un riesgo mayor de bacteremia por el mismo germen.

El riesgo de infección en los pacientes neutropénicos se relaciona de forma inversamente proporcional al número total de neutrófilos. Los pacientes con neutrófilos totales menores de 500 cel/mm³, se encuentran en gran riesgo de infección y más aún aquellos que tienen menos de 100 neutrófilos totales. La progresión de la infección puede ser rápida por lo que el inicio del tratamiento empírico debe ser oportuno, inmediatamente después del inicio de la fiebre, y de cobertura amplia.¹

En estudios controlados se han identificado factores de riesgo que favorecen infecciones serias entre los pacientes febriles con neutropenia grave, tales como: neutropenia profunda (neutrófilos totales menores a 100 cel/mm³), neutropenia por más de

7 días, alteración de las pruebas de funcionamiento hepático, colocación de catéteres endovenosos, cáncer no controlado, edad mayor de 60 años, y haber recibido tratamiento antifúngico en los últimos 6 meses.^{12, 13}

3. Mortalidad en los pacientes neutropénicos.

La mortalidad en los pacientes neutropénicos con fiebre se ha estudiado en diferentes series.^{6,7,11}, la mortalidad cruda durante al evento febril ha sido reportada entre el 10% y el 35%, según diferentes estudios.^{1,7,11} La mortalidad en general en estos pacientes está relacionada con las condiciones propias de la enfermedad y del paciente en un alto porcentaje. En un estudio reciente realizado en el Instituto¹⁴, encontramos que la mortalidad en estos pacientes se encuentra más asociada a factores relacionados a la enfermedad o al huésped, como la edad y el estado no controlado o en recaída de la enfermedad.

A pesar de la posible predominancia de los gérmenes gram-positivos, la mortalidad atribuible a las bacteremias causadas por gérmenes gram negativos sigue siendo mayor, para *Pseudomonas sp* hasta del 76%, solo es superada por las fungemias, con mortalidad del 95% y por *Staphylococcus aureus* metilino-resistente del 82%.²

4. Prevención de bacteremias en los pacientes con neutropenia grave

Las bacteremias por enterobacterias y *P. aeruginosa*^{3,4} se han reconocido desde tiempo atrás como causas importantes de mortalidad entre los pacientes con neutropenia severa durante el periodo posterior a la quimioterapia.

Estos hallazgos llevaron a la realización de múltiples estudios que valoraron la utilidad de la profilaxis antimicrobiana contra los gérmenes más frecuentemente

relacionados con bacteremia en los pacientes neutropénicos, así se probaron diferentes antibióticos como descontaminantes intestinales con la finalidad de disminuir la cantidad de gérmenes potencialmente responsables de infecciones generalizadas y preservar la flora anaerobia considerada como protectora. Los antibióticos que se han usado con esta finalidad han sido algunos no absorbibles como: aminoglucósidos, polimixina y vancomicina oral y antibióticos absorbibles: trimetoprim-sulfametoxazol y quinolonas.^{14,15}

Rozenberg¹³ demostró que el uso de trimetoprim-sulfametoxazol evita la colonización por bacilos gram-negativos resistentes. Posteriormente, el mismo autor reportó disminución de la flora bacteriana intestinal con la administración de profilaxis con ciprofloxacino por vía oral. Por lo que se propuso como antibiótico profiláctico en estos pacientes. Sin embargo, los resultados de los estudios con trimetoprim-sulfametoxazol rápidamente demostraron pobre utilidad de este antibiótico para prevenir las bacteremias por gram negativos por lo que pronto se dejó de usar¹⁵.

Las quinolonas han sido empleadas en la profilaxis porque tienen diferentes características como: su amplio espectro antimicrobiano, logran altas concentraciones en heces, tienen buena actividad bactericida sistémica y son bien tolerados.¹⁶

En la literatura médica existen más de 5000 estudios publicados con este objetivo y a través de 3 meta-análisis se han podido evaluar mejor los resultados de estos estudios. El primero de estos meta-análisis fue publicado por Cruciani¹⁶ en 1996, donde incluyó los estudios prospectivos, aleatorizados, publicados entre 1984 y 1994, que usaron quinolonas en comparación con placebo o quinolonas más un antibiótico con actividad contra gram positivos (vancomicina oral, rifampicina), en comparación con placebo. Se analizaron 19 estudios, 13 correspondieron al primer grupo y 6 al segundo.

En el primer grupo se encontró disminución del número de bacteremias por gérmenes gramnegativos (OR 0.09, IC 95% 0.05-0.16, $p < 0.001$). Sin embargo, la profilaxis se asoció con una tendencia incrementada de bacteremias por gérmenes gram positivos, sin diferencia estadística y su uso no tuvo impacto sobre la mortalidad ($p = 0.4$). El segundo grupo se redujo la frecuencia de bacteremias por gérmenes grampositivos (OR 0.76, IC 95% 0.33-0.63, $p < 0.001$), pero sin efecto sobre la mortalidad.

El segundo meta-análisis fue publicado por Engels¹⁷ en 1998, incluyó 18 estudios aleatorizados, controlados, que usaron profilaxis con quinolonas o trimetoprim-sulfametoxazol en comparación con placebo. Encontró que la profilaxis con quinolonas disminuyó la incidencia de infecciones bacterianas por gérmenes gram negativos (OR 0.21, IC 95% 0.12-0.37) y de los episodios febriles (OR 0.85, IC 95% 0.73-0.99). Por otro lado, no se alteró la incidencia de infecciones causadas por gérmenes gram positivos o por hongos y no incrementó la frecuencia de infecciones causadas por gérmenes resistentes, sin embargo no tuvo impacto en la mortalidad. En el segundo grupo donde se usó trimetoprim-sulfametoxazol, no hubo diferencia con el placebo para prevenir infecciones.

El tercer meta-análisis fue publicado también por Cruciani¹⁸ en 2003, incluyó solo 9 estudios aleatorizados desde 1984 hasta 2002, en donde se usaron quinolonas solas (ciprofloxacino, ofloxacino, pefloxacino o norfloxacino) contra quinolonas asociadas a un antibiótico con actividad contra gram positivos. Se encontró disminución de la frecuencia de bacteremias por gérmenes gram negativos, sin embargo, la adición de un antibiótico contra gram positivos, no previno las bacteremias por estos gérmenes (RR 1.46, IC 95% 1.04-2.04), y tampoco se observó impacto sobre la mortalidad.

Por ello, actualmente los expertos no recomiendan el uso rutinario de profilaxis en los pacientes neutropénicos y sobre todo en los centros hospitalarios donde se ha encontrado una alta prevalencia de resistencia a quinolonas o donde se usan de rutina para el tratamiento parenteral de los episodios febriles de los pacientes neutropénicos con fiebre¹.

5. Efectos de la profilaxis con quinolonas.

Desde los primeros estudios realizados para analizar la profilaxis por quinolonas, se comenzó a informar sobre el incremento en la aparición de gérmenes gram positivos, principalmente por *S. aureus* meticilino resistente, probablemente debido al espectro reducido de las quinolonas para los estafilococos¹⁹. Esto ha colocado a los cocos gram-positivos como la principal causa de bacteremia en los últimos años y ha facilitado la aparición de cepas resistentes^{20,21}. En estos estudios no se ha demostrado gran impacto de la profilaxis sobre la mortalidad pero si el incremento de la colonización por hongos.^{1,2} La colonización por hongos se ha reconocido como uno de los factores de riesgo para fungemias.

En 1984 Wingard²² realizó el primer estudio que evaluó el efecto de la profilaxis sobre la flora intestinal. Incluyó 86 pacientes con trasplante de médula ósea a los que les dieron como profilaxis trimetoprim-sulfametoxazol. Encontró 40% de gérmenes resistentes en los coprocultivos. Los gérmenes resistentes más frecuentemente aislados fueron *E. coli* y *P. aeruginosa* y solo 13 se asociaron a infección.

6. Microbiología de las bacteremias en el INCMNSZ.

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), es un hospital de referencia, de aproximadamente 200 camas censables. En

un estudio reciente realizado en el Instituto por Kato y cols²³ se analizaron 1584 bacteremias, los gérmenes más frecuentes fueron *E. coli*, *S. aureus* y *S. epidermidis*. Se incrementaron las frecuencias de bacteremias por *E coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter sp*, *Serratia sp*, *S aureus*, *S. epidermidis* y *Enterococcus sp*. El incremento de resistencia a quinolonas tanto para gram negativos como para gram positivos fue notable. Para *E coli* la resistencia a ciprofloxacino se incrementó de 18 a 45% y para *Enterococcus* de 0 a 70% durante el periodo de estudio²⁴. Así mismo, entre las cepas de *K. pneumoniae*, hubo un incremento en la producción de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE).

7. Experiencia del uso de quinolonas en la profilaxis de la neutropenia grave de los pacientes con leucemia en el INCMNSZ.

En nuestro hospital se han usado de forma poco estandarizada las quinolonas como profilaxis en los pacientes con neutropenia grave y neoplasias hematológicas. Recientemente, realizamos un estudio retrospectivo¹⁴ de 1998 a 2003, para analizar la utilidad de la profilaxis con quinolonas en los pacientes con neutropenia secundaria a quimioterapia por leucemia aguda mieloide. Se analizaron 71 pacientes, entre los que se desarrollaron 108 eventos, 46 episodios (42.5%) con profilaxis y 62 (57.4%) sin profilaxis. Se usó ciprofloxacino a dosis de 500 mg/día. Se documentaron 27% de bacteremias, 26% en el grupo con profilaxis vs. 27% en el grupo sin profilaxis. Los gérmenes más frecuentemente aislados fueron gram negativos: *E. coli* (14), *K. pneumoniae* (1), *P. aeruginosa* (1), *Stenotrophomona maltophilia* (1), *Citrobacter freundii* (1). La mortalidad general fue de 30% y la asociada a infección fue de 16.6%. La profilaxis no previno eventos febriles ni bacteremias por gram negativos. La frecuencia de bacteremias por gram positivos, por levaduras o por gérmenes resistentes, no se incrementó.

Al conocer los patrones de susceptibilidad de los gérmenes aislados de sangre en nuestro Instituto y en especial de la alta resistencia a quinolonas tanto para gérmenes gram positivos como para gram negativos, y al encontrar la falta de utilidad de las quinolonas para prevenir eventos febriles y bacteremias por gram negativos, el departamento de Infectología, optó por no usar quinolonas en la profilaxis de los pacientes con neutropenia grave y leucemia aguda.

8. Utilidad de los coprocultivos para dirigir la terapia de los pacientes neutropénicos con fiebre y leucemia.

Ante la evidencia de que 40-90% de los episodios de sepsis en los pacientes neutropénicos por quimioterapia eran causados por bacilos gram negativos del tubo digestivo, en los 80's se realizaron diferentes estudios para valorar la utilidad de los coprocultivos para guiar la terapia antimicrobiana en los pacientes que presentaban fiebre y neutropenia grave^{25,26}. En los primeros estudios se encontraron resultados poco concluyentes, con diversos problemas relacionados con el procesamiento de las muestras, como la cantidad de muestra inoculada en los medios de cultivo, el tipo de medio de cultivo que se usó y la identificación de todos los aislados clínicos.

Uno de los primeros conceptos derivados del estudio de las heces de estos pacientes, fue el hallazgo de Schimpff y cols²⁷ en 1972. Ellos encontraron una asociación fuerte entre la colonización por *P. aeruginosa* con la sepsis en la mayoría de los pacientes neutropénicos. Después de mejorar las medidas de prevención como lavado de manos y cambio en los antibióticos orales de profilaxis, esta asociación disminuyó sustancialmente. Otro hallazgo importante fue realizado por Gurwih²⁸, quien encontró que 20 de 42 episodios de bacteremia evaluables en pacientes con leucemia tuvieron el antecedente de coprocultivos positivos para el mismo germen. Daw y cols²⁹ evaluaron 72 pacientes con

leucemia, y encontraron infección en 32 de ellos. La bacteremia se presentó en todos los pacientes que estaban colonizados previamente del tubo digestivo y cuando se cultivaron generalmente fueron cultivos puros, sobre todo por *Enterobacter cloacae* resistente a trimetoprim-sulfametoxazol.

Sin embargo, la toma de coprocultivos como parte de una estrategia para valorar colonización en estos pacientes, fue poco aceptada por el costo elevado, la dificultad de su realización y la utilidad clínica limitada. Por ello, algunos investigadores se propusieron la tarea de detectar solo gérmenes resistentes. Smith y cols³⁰ analizaron la utilidad de detectar cepas resistentes a los antibióticos más empleados en su momento para guiar el tratamiento en los pacientes con neutropenia antes de presentar fiebre. Encontraron que el uso de agar MacConkey suplementado con antibiótico para la detección de cepas resistentes, fue preciso, útil y rápido y podía ser una buena guía para el clínico que trata pacientes neutropénicos.

Wingard²², estudió la colonización por cepas resistentes a carbenicilina y aminoglucósidos. Encontró que el 40% de los pacientes estudiados presentaron cepas resistentes, y una tercera parte de las cepas resistentes estaban presentes antes del uso de los antibióticos (trimetoprim sulfametoxazol como profilaxis), sobre todo *P. aeruginosa*. Se detectaron 12 infecciones en los pacientes colonizados, de ellas, el 58% fue en pacientes con colonización persistente. De los pacientes colonizados con *P. aeruginosa*, solo el 12% desarrollaron infección, en contraste con los pacientes colonizados por cepas resistentes de *E. coli*, quienes desarrollaron infección en el 29%, probablemente esto se debe a la proporción mayor de estos organismos en las heces.

En este estudio²² también se calcularon la sensibilidad, especificidad y valores predictivos del coprocultivo en pacientes que presentaban colonización con organismos resistentes, los valores fueron 80%, 59%, 25% y 94%, respectivamente. También se observó que hubo aumento en la especificidad del coprocultivo al 93% en pacientes que tuvieron colonización persistente, pero se disminuyó la sensibilidad a 47%. Cohen y cols., encontraron resultados similares en los valores predictivos positivo y negativo ³¹ . En pacientes con colonización por gérmenes resistentes el riesgo de bacteremia se incrementó de 17 a 174 veces más, logrando detectarse en el grupo de pacientes de alto riesgo y por lo que se propuso como una estrategia de vigilancia útil en estos pacientes.

De Jong y cols³² utilizaron los coprocultivos para valorar la efectividad de la terapia de descontaminación, y encontraron que el 41% de las infecciones entre los pacientes neutropénicos se pudieron predecir por los coprocultivos. Sin embargo se dejaron de utilizar en estos pacientes debido al costo y laboriosidad que requerían y sobre todo por tener mejores estrategias de prevención con los resultados de la descontaminación intestinal.

9. Inducción de resistencia por quinolonas.

La exposición a antibióticos puede promover el desarrollo de resistencia en bacterias que han adquirido genes exógenos de resistencia o de aquellas bacterias que contienen genes con mutaciones que confieren resistencia. La principal vía de transferencia de genes de resistencia entre bacterias, aún entre diferentes especies, es a través de plásmidos. Una vez que el gene de resistencia ha entrado en una población bacteriana, existe la posibilidad de expansión clonal y de transferencia horizontal del gene entre cepas y especies bacterianas diferentes³⁴.

En cuanto a las mutaciones cromosómicas, su expansión es clonal ante la presión selectiva por los antibióticos. Existen dos tipos de mutaciones: 1) aquellas que alteran las subunidades de las enzimas blanco de las quinolonas, la DNA girasa y la DNA topoisomerasa IV, y 2) aquellas que alteran la permeabilidad de la membrana externa de la bacteria y modifican el paso del antibiótico a través de los canales de las porinas de las bacterias gramnegativas^{34, 38}.

El uso de las quinolonas actualmente es limitado. Uno de los principales motivos es el desarrollo casi inmediato de resistencia, sobre todo en infecciones polimicrobianas en donde los gérmenes patógenos involucrados sean *P. aeruginosa* o *Staphylococcus aureus*. Otra limitación depende del sitio anatómico donde se encuentre la infección para que el antibiótico penetre o los mecanismos de defensa del huésped se encuentran disminuidos para controlar la infección.^{33,39}

En estudios recientes se ha encontrado el uso de fluoroquinolonas como un factor independiente del surgimiento de cepas productoras de beta-lactamasas de espectro extendido³⁶

10. Beta-lactamasas de espectro extendido e implicaciones el tratamiento

La emergencia de resistencia a antibióticos β -lactámicos se documentó antes de que se desarrollara la penicilina, el primer β -lactámico. La resistencia al los antibióticos beta-lactámicos se debe principalmente a la producción de β -lactamasas, enzimas que inactivan a los beta lactámicos mediante el corte de la unión amida del anillo beta-lactámico. Existen numerosas β -lactamasas codificadas por genes cromosomales o por genes transferibles localizados en plásmidos o transposones³³.

Actualmente, los gérmenes productores de beta lactamasas de espectro extendido (BLEE) representan un problema mundial. Las BLEE han sido detectadas una amplia variedad de bacterias gram negativas, sin embargo *K. pneumoniae* es el germen que produce más frecuentemente estas enzimas, seguido de *E. coli*.³⁵

Las BLEE son enzimas que fenotípicamente se caracterizan por conferir resistencia a penicilinas y cefalosporinas, incluyendo las de tercera y cuarta generación y pueden ser inhibidas por el ácido clavulánico. Las bacterias productoras de BLEE son únicamente susceptibles a carbapenémicos, cefamicinas, y las combinaciones de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas como el tazobactam y el sulbactam. Existe poca evidencia obre su influencia en el desenlace de los pacientes con infecciones graves por estos microorganismos, sin embargo en los estudios previos, existe la asociación entre mala evolución del paciente y la detección de cepas productoras de BLEE, debido a que el riesgo de falla al tratamiento se incrementa.³⁷

La clasificación de las BLEE se ha realizado en base a su secuencia de aminoácidos. Clásicamente existen de tres tipos: a) La clase A con son enzimas con peso molecular de alrededor de 29,000 KDa. b) La clase B son metalo-enzimas que tienen una unión de zinc con un grupo tilo, necesario para la actividad beta-lactámica. c) La clase C que incluye a las beta-lactamasas cromosomales ampC de *Escherichia coli* . d) La Clase D son enzimas hidrolizadoras de oxacilina.

La mayoría de las BLEE son derivadas de las enzimas TEM o SHV. Actualmente existen más de 90 tipos de BLEE del grupo TEM y más de 25 del grupo SHV. Se encuentran con mayor frecuencia en *E. coli* y *K. pneumoniae*, sin embargo han sido encontradas también en *Proteus spp*, *Providencia spp*, y otras enterobacterias³⁵.

Recientemente, ha surgido una nueva familia de BLEE mediada por plásmidos, llamada CTX-M, que preferentemente hidroliza la cefotaxima, se ha encontrado principalmente en *Salmonella enteritidis*, *E. coli* y en otras especies de enterobacterias.

Actualmente la NCCLS⁴⁴ recomienda realizar una búsqueda de escrutinio de cepas productoras de BLEE, mediante el crecimiento de la cepa problema en medio que contenga 1 µg/ml de cualquier antibiótico beta-lactámico de espectro extendido y posteriormente realizar una prueba confirmatoria que consiste en determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI a ceftazidima o a cefotaxima con y sin la presencia de ácido clavulánico (4 µg/ml). La disminución en la CMI de 3 veces la dilución en presencia del ácido clavulánico es una prueba confirmatoria de una cepa productora de BLEE.

Las pruebas de detección de BLEE se han comercializado como la prueba E, que son tiras con antibiótico en los 2 extremos (ceftazidima y en la otra ceftazidima + clavulanato). Esta prueba es la que ofrece mayor sensibilidad y especificidad (91 y 97% respectivamente). El sistema automatizado de susceptibilidad antimicrobiana Vitek (Biomérieux, Hazlewood, Mo.) también es capaz de detectar BLEE^{40,43}.

Con estos antecedentes, en este estudio se pretende conocer si la flora bacteriana de los pacientes con leucemia aguda muestra resistencia a los antibióticos que más frecuentemente utilizamos en el tratamiento de la neutropenia grave y como influyen las hospitalizaciones, el uso de antibióticos y de quimioterapia en el cambio de esta flora. De esta manera podremos evaluar si es posible diseñar nuevas opciones de esquemas de profilaxis para prevenir traslocación bacteriana y la emergencia de resistencia bacteriana.

JUSTIFICACIÓN

El origen de las bacteremias que se presentan en los pacientes durante la neutropenia grave, generalmente es secundaria a la traslocación bacteriana de la flora intestinal. En la actualidad, no existen estudios prospectivos que describan el cambio en la colonización bacteriana gastrointestinal entre los pacientes con leucemia y neutropenia grave, y la influencia de la exposición a diferentes antibióticos y agentes de quimioterapia que se utilizan de forma rutinaria en estos pacientes.

El conocimiento del comportamiento de la flora bacteriana en los pacientes con leucemia permitiría al clínico predecir el tipo de gérmenes asociados con las bacteremias que se presentan en esta población de gran riesgo y elaborar estrategias de prevención de bacteremias secundarias a traslocación bacteriana de forma más adecuada en estos pacientes, ya que el inicio temprano y adecuado de antibióticos tienen un impacto importante en la supervivencia. De manera que el conocimiento de la frecuencia de cepas productoras de beta-lactamasas de espectro extendido, puede ayudar a la definición de un mejor tratamiento contra estas cepas.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS NULA

Los pacientes con leucemia aguda y antecedente de uso de antibióticos, no se colonizan por bacilos gram negativos resistentes, y las bacteremias son ocasionadas por gérmenes susceptibles a la mayoría de los antibióticos.

HIPÓTESIS ALTERNA

Los pacientes con leucemia aguda y antecedente de uso de antibióticos, tienen mayor posibilidad de colonización de tubo digestivo por bacilos gram-negativos resistentes, los cuales son responsables de bacteremias.

OBJETIVOS

OBJETIVO ESPECIFICO

Conocer cuales son los gérmenes colonizantes resistentes del tubo digestivo de los pacientes con leucemia aguda y su cambio de patrón de susceptibilidad relacionado con hospitalizaciones y el uso de antibióticos para tratamiento o profilaxis en neutropenia.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Identificar la presencia de bacilos gram negativos y enterococos resistentes a quinolonas y cefalosporinas en heces.
2. Identificar la presencia de gérmenes gram negativos productores de BLEE en heces.
3. Establecer si la colonización por gérmenes resistentes es factor de riesgo independiente para bacteremia.
4. Establecer si existe mayor riesgo de producir bacteremia entre los organismos resistentes que colonizan persistentemente el tubo digestivo.
5. Establecer si existe asociación entre la colonización por gérmenes resistentes y mayor riesgo de muerte secundaria a infección.

METODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo, observacional, longitudinal, con seguimiento de los pacientes por 30 días después del inicio de la neutropenia grave y/o el evento febril. El estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Investigación Biomédica en Humanos del INCMNSZ. (ver anexo 1)

PACIENTES.

Se invitaron a participar a todos los pacientes con diagnóstico conocido de leucemia aguda de estirpe linfóide o mielóide, que fueron hospitalizados por eventos de neutropenia grave febril y a los pacientes hospitalizados para confirmar el diagnóstico de leucemia y para recibir su primer ciclo de quimioterapia, durante el periodo del 1ro de febrero del 2004 hasta el 31 de agosto del 2004. Se obtuvo consentimiento informado al momento de la invitación de participación en el estudio en todos los pacientes.

Los pacientes fueron evaluados cada semana, mediante una visita con interrogatorio y exploración física en búsqueda de sitios de infección. La evaluación basal en los pacientes que ingresaron por primer esquema de quimioterapia, se realizó en el momento de obtener el diagnóstico definitivo y antes de recibir quimioterapia o cualquier antibiótico y tener menos de 48 hr de hospitalización. En los pacientes con diagnóstico de leucemia conocido, la evaluación basal se realizó en momento de ingresar a urgencias por un evento de neutropenia grave febril. Posteriormente, todos los pacientes fueron evaluados cada semana, se les realizó evaluación clínica, exámenes de laboratorio y se les tomaron muestras de heces para coprocultivo. Los pacientes egresados antes de las 4 semanas y resuelto el evento febril, fueron revisados en la consulta externa de

Hematología durante sus visitas de seguimiento habituales, y se les pidió una muestra de heces del mismo día , la cual fue transportada en hielo en un tiempo no mayor de 6 horas.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Pacientes que hubieran aceptado participar en el estudio y hayan firmado el consentimiento informado, con atención en el Instituto y las siguientes características:

- *Leucemia aguda*: leucemia aguda de estirpe mieloide o linfoide confirmada por la presencia de células neoplásicas en sangre periférica, estudio de patología de médula ósea y/o inmunohistoquímica, e inmunofenotipo,
- *Pacientes que ingresaron por primera vez al Instituto* por leucemia aguda sin quimioterapia previa.
- *Pacientes ya conocidos en el Instituto con leucemia aguda* que se encontraban en quimioterapia (inicial, de mantenimiento o "de reinducción").
- *Neutropenia grave febril* definida como la presencia de 500 cel/mm^3 o menos en sangre periférica, secundaria a efecto de quimioterapia o por infiltración de médula ósea por neoplasia hematológica, asociada a temperatura axilar $> 38^\circ\text{C}$ en por lo menos 1 ocasión.
- *Con o sin profilaxis antimicrobiana* que haya sido administrada máximo 7 días previos al inicio de la neutropenia grave y/o el evento febril y mínimo durante 2 días.
- *Con esperanza de vida mayor a treinta días.*

. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes que no acepten ingresar al estudio.
- Pacientes con neutropenia grave sin leucemia aguda linfocítica o mielocítica (anemia aplásica, síndrome mielodisplásico, hemoglobinuria paroxística nocturna, linfoma o enfermedad de Hodgkin). Pacientes en protocolo de trasplante de médula ósea.

VARIABLES DEL ESTUDIO

Variables dependientes: colonización gastrointestinal por gérmenes resistentes bacteremia por gérmenes resistentes y muerte.

Variables Independientes :

- **Socioeconómicas:** edad, sexo.
- **Enfermedad subyacentes:** leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielocítica aguda, enfermedad en remisión, otras enfermedades: diabetes mellitus, hipertensión arterial, cirrosis hepática, lupus eritematoso sistémico, insuficiencia renal.
- **Tratamiento con quimioterapia:** Tipo de quimioterapia, duración, nadir de la quimioterapia.
- **Evento febril:** Número de eventos febriles previos, cuenta de neutrófilos totales, cuenta de linfocitos totales, cuenta de hemoglobina, cuenta de plaquetas, presencia de neutropenia profunda, procedimientos invasivos (catéter central, sonda vesical, venoclisis, intubación orotraqueal, sonda nasogástrica, cirugía, endoscopia), estancia en UTI, duración de hospitalización, uso de factor estimulante de colonia de granulocito, duración de uso, gravedad medida por escala de APACHE II.
- **Antecedente de empleo de antibióticos:** cualquier antibiótico usado dentro de los 7 días previos a la recolección de cada muestra de heces, motivo del tratamiento (profilaxis o tratamiento), duración total del uso de antibióticos.

- **Desarrollo de bacteremia:** Sitio de origen de la bacteremia, tiempo de evolución entre la quimioterapia y la bacteremia.
- **Características de los gérmenes recuperados de la bacteremia:** gérmenes responsables de la bacteremia, bacteremia múltiple, patrones de susceptibilidad, mecanismos de resistencia, asociación entre gérmenes recuperados en coprocultivos y en la bacteremia.
- **Gérmenes aislados en coprocultivos.** Aislamiento de *Enterococcus sp* y bacilos gram negativos resistentes, determinación del # de unidades formadoras de colonias por germen aislado, identificación de colonización persistente o transitoria.

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

Las variables se encuentran enumeradas y descritas en la tabla 1.

PROCEDIMIENTOS.

Obtención de datos del paciente.

Todos los datos en relación al paciente y el tipo de quimioterapia usada, se recolectaron de forma prolectiva en cada visita, mediante el instrumento de recolección de datos. Ver anexo 1. En cada visita del paciente se realizó una exploración física completa en búsqueda de sitios de infección y efectos adversos de la quimioterapia.

Obtención de muestras de heces para cultivos.

Se recolectó la muestra de heces fresca para coprocultivo al tiempo cero, que fue cuando el paciente ingresó por primera vez al Instituto con el diagnóstico confirmado de leucemia aguda, previo a iniciar quimioterapia (por lo menos 24 hr antes) y no más de 48 hr después de haber ingresado al hospital. Posteriormente, se tomarán muestras de heces 1 vez por semana desde el día de inicio de la neutropenia grave, hasta 30 días

después, éstas se colectaron durante su hospitalización o si el paciente fue egresado antes de los 30 días se colectaron a través de la consulta externa en las visitas semanales que se programaron para revisión junto con el hematólogo en la consulta externa.

Las muestras se trasportaron al laboratorio de Microbiología Clínica en un lapso no mayor de una hora en un contenedor estéril sin conservador. Cuando las muestras fueron colectadas por el paciente antes de acudir a la consulta, se solicitó que fueran frescas (menos de 3 hr entre la colección y la entrega de la muestra en el laboratorio)

Procesamiento de las muestras.

La muestra de heces fue homogenizada, posteriormente, se pesaron 100 mg en un tubo Eppendorff de 2mL en balanza analítica y se agregaron 900 μ L de buffer PBS pH 7.3 (ver anexo 2). Se homogenizó la muestra por agitación en vortex. Se usó asa calibrada de 1 μ L para sembrar de forma radiada en los siguientes medios: MacConkey sin antibiótico y MacConkey con ciprofloxacino con una concentración final de 8 μ g/mL, con ceftazidima 16 μ g/mL, con amoxicilina/clavulanato 16/8 μ g/mL y también en medio de Fenil-etil-alcohol (FEA) sin antibiótico y con ciprofloxacino. Para aislar cepas de *Enterococcus sp.* Y bacilos gramnegativos resistentes, los medio de cultivo fueron revisados a las 24 y a las 48 hr de incubación.

Estandarización de las concentraciones de antibiótico en los medios de cultivo para aislar las cepas resistentes.

Se preparó medio de agar MacConkey y agar FEA con diferentes concentraciones de antibióticos para aislar las cepas resistentes a cada uno de los antibióticos probados,

como en Calva y cols⁴¹. Se usaron cepas control sensibles de *E. coli* ATCC 29212, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. faecium* ATCC 29212. Se usaron cepas clínicas resistentes como control: *E. coli* resistente a ciprofloxacino y ceftazidima (CMI* para CIP 4µg/mL, CMI* para CAZ 8µg/mL), *P. aeruginosa* (CMI para CIP 2µg/mL y CAZ 8µg/mL) y una cepa de *E. faecium* resistente a ciprofloxacino (CMI 4µg/mL). Las concentraciones óptimas de antibiótico fueron: ceftazidima 16 µg/mL, ciprofloxacino 4 µg/mL, y amoxicilina/clavulanato 16/8 µg/mL

Identificación y pruebas de susceptibilidad de las cepas.

Se realizó la cuenta del número de unidades formadoras de colonias. Cuando hubo diferentes tipos de colonias cada una de ellas se cuantificó en todos los medios usados. Posteriormente, cada una de las colonias diferentes se separaron en una placa de medio de cultivo suplementado con el antibiótico que las seleccionó. Cada colonia se identificó con el sistema automatizado Vitek® (bioMérieux, Durham NC, USA) y con pruebas bioquímicas convencionales para identificación de especie. Las pruebas de susceptibilidad se con el sistema automatizado Vitek®. Para organismos gram negativos se uso la tarjeta V 4223, que contiene los siguientes antibióticos: amikacina, amoxicilina/clavulanato, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime, gentamicina, meropenem, ciprofloxacino, levofloxacino, nitrofurantoina, piperacilina, trimetoprim-sulfametoxazol y ticarcilina/clavulanato.

Para enterococos se realizaron pruebas de susceptibilidad con la Tarjeta V4411 que contiene: ampicilina, gentamicina-500µg estreptomina-2000µg, nitrofurantoina, vancomicina, teicoplanina, ciprofloxacino y levofloxacino. La interpretación de la

* CMI= concentración mínima inhibitoria determinada por prueba de microdilución en caldo.

susceptibilidad se realizó según la NCLSS.⁴⁴ Las cepas incluidas en el estudio, fueron aquellas que crecieron originalmente en el medio de cultivo con antibiótico y confirmada su resistencia por el método VITEK (ciprofloxacino, ceftazidima o amoxicilina/clavulanato)

El mismo germen recuperado en más de dos muestras de un mismo paciente se consideró como colonizante persistente y el que solo se recuperó una vez se considerará como colonizante temporal.

Aislamiento de gérmenes de hemocultivos y susceptibilidad antimicrobiana.

A los pacientes que presentaron fiebre durante el estudio y hospitalizados se les tomaron dos hemocultivos, y se cultivaron muestras de los sitios identificados como posibles focos de infección. Los gérmenes aislados de estos cultivos se identificaron mediante el sistema automatizado Vitek® y se realizaron pruebas de susceptibilidad (tarjeta V 4223 para gram negativos y V4511 para gram positivos).

Detección de beta-lactamasas de espectro extendido.

Se les realizó detección de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) a todas las cepas que tuvieron una CMI mayor de 1 µg/ml para ceftazidima. La detección se realizó mediante prueba E (E test ESBL®, AB BIODISK, Suecia) según las recomendaciones de la NCCLS⁴⁴ y del fabricante.

Se consideró la prueba E positiva cuando el MIC para ceftazidima fue $\geq 1\mu\text{g/ml}$ y el halo de inhibición para ceftazidima y ácido clavulánico fue $\geq 8\mu\text{g/ml}$ o la reducción mayor de 3 diluciones en la CMI de ceftazidima + ácido clavulánico en comparación con la CMI de ceftazidima⁴⁴.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó análisis descriptivo de las características basales de la población, con medidas de tendencia central, de dispersión y porcentajes. Así mismo se describieron las cepas aisladas por paciente y por visitas. Los desenlaces del estudio fueron: colonización por gérmenes resistentes, bacteremia por gérmenes resistentes y muerte.

Los diferentes desenlaces se analizaron para mediante un análisis univariado y las variables que tuvieron significancia estadística para cada desenlace se incluyeron en un análisis multivariado.

Se analizó dentro del primer desenlace el impacto del antecedente terapéutico con quinolonas en la aparición de colonización por gérmenes productores de BLEE. En caso de demostrar traslocación bacteriana se analizará la utilidad de los coprocultivos para predecir los gérmenes responsables de las bacteremias en estos pacientes. Se realizó el análisis de supervivencia utilizando gráficas de Kaplan – Mayer para los grupos.

RESULTADOS

Pacientes: Se incluyeron 22 pacientes en el estudio. Dos pacientes no concluyeron el estudio, ya que solo proporcionaron 1 muestra, por lo que fueron excluidos del análisis de mortalidad.

Del los 22 pacientes totales, 10 eran hombres (45%) y 12 mujeres (54.5%). La media de edad fue de 36.2 años (15 a 76 años). Catorce pacientes con leucemia aguda

linfoide (LAL) (63%) y 8 pacientes con leucemia aguda mieloide (LAM) (37%), 10 pacientes con diagnóstico de leucemia aguda reciente, y 12 con diagnóstico conocido de leucemia. Trece pacientes tenían alguna co-morbilidad, la más frecuente fue diabetes mellitus (22%) e hipertensión arterial (13%). Ver tabla 2.

Características relacionadas al evento de neutropenia grave y fiebre durante la hospitalización. Diecisiete pacientes (77%) ingresaron en algún momento al servicio de urgencias. Ninguno requirió hospitalización en la unidad de cuidados intensivos, durante el tiempo de vigilancia. Durante el periodo de estudio, 14 pacientes tuvieron más de un internamiento, 11 tuvieron dos internamientos y tres, dos internamientos. (Ver tabla 3)

Las causas de hospitalización de los pacientes con diagnóstico reciente de leucemia fue para recibir quimioterapia y de los pacientes con diagnóstico conocido, con por un evento de neutropenia grave y fiebre. La duración de la estancia hospitalaria fue de 14 días en promedio (rango de 1-23 días), 9.4 días en promedio (rango de 1-17.6 días) para el primer grupo, y de 5.6 días, (rango de 1-21 días), para el segundo. Al ingresar 20 pacientes, tenían el antecedente de tratamiento con antibióticos en la semana previa y solo uno de ellos fue con el objetivo de profilaxis y no desarrolló bacteremia.

Al 100% de los pacientes se les realizó algún procedimiento invasivo durante la hospitalización, el más frecuente fue la colocación de un catéter venoso central (95%) y 6 pacientes (27%) tuvieron sonda Foley.

Aislados Clínicos: En total obtuvimos 419 aislados clínicos resistentes de 90 muestras procesadas de los 22 pacientes, en los cuatro medios selectivos. El medio de cultivo MacConkey adicionado con amoxicilina/clavulanato fue el que permitió la mejor

selección de los gérmenes. (Ver tabla 4). El promedio de aislamiento de gérmenes por medio de cultivo fue de 4.45 aislados resistentes por muestra. Los gérmenes más frecuentemente aislados fueron: *E. coli* (62.2%), *K. pneumoniae* (8.8%), *E. faecium* (8.3%), *E. cloacae* (6.9%) y *Morganella morganii* (2.6%). (Tabla 4). En el medio MacConkey suplementado con ceftazidima recuperamos 96 cepas diferentes, en el medio MacConkey recuperamos 107 cepas, en el medio MacConkey con amoxicilina/clavulanato recuperamos 165 cepas y en el medio FEA con ciprofloxacino, se recuperaron 51 enterococos.

El número de aislados (cepas morfológicamente diferentes) por visita mostró un incremento progresivo de número de cepas resistentes aisladas de la primera hasta la tercer visita (79, 93 y 100 aislados totales respectivamente), momento en el que alcanzó su máximo pico, para después recuperarse 95 cepas en la 4 visita y para la quinta solo se recuperaron 42 cepas. (ver tabla 5)

Los aislados por cada medio de cultivo en cada visita, se incrementó de la primera a la segunda visita en todos los medios de cultivos y se mantuvo igual hasta la tercera visita en medio MacConkey con ciprofloxacino y ceftazidima. Hacia la cuarta y quinta visitas en general, se observó disminución del número de cepas diferentes por medio de cultivo, a excepción de las cepas que crecieron en el medio MacConkey suplementado con ceftazidima, en el que se incrementaron para la quinta muestra. (Ver tabla 5)

La resistencia global a quinolonas fue la más frecuente (68.3%), seguida de la resistencia a amoxicilina/clavulanato (66.6%), a cefalosporinas (43%) y a aminoglucósidos (43%). La producción de BLEE se detectó en 156 (37.3%) de las cepas analizadas, principalmente en: *E coli* (127/261 [46%] del total de cepas de *E coli*) y *K. pneumoniae*

(16/36 [44%] del total de cepas de *K. pneumoniae*). Entre los pacientes del primer grupo, solo se recuperaron 19 cepas y 137 entre los pacientes del segundo grupo. El 80% de la población evaluada en algún momento del estudio se le aisló por lo menos un germen productor de BLEE.

De los aislados más frecuentes, *E coli*, y *Klebsiella pneumoniae*, mostraron 79%, 47% de resistencia a quinolonas respectivamente y a cefalosporinas 55% y 47%. Para *E faecium* se encontró que el 100% era resistente a quinolonas y 72% resistentes a amoxicilina/clavulanato.

Inicio de la colonización por cepas resistentes. En la primera visita, el 80% (17) de los pacientes estaban colonizados por gérmenes resistentes, todos estaban distribuidos de forma proporcional entre los que tenían diagnóstico conocido de leucemia y entre los que se les realizó diagnóstico al llegar al Instituto. (ver tabla 6 y 7)

Diez pacientes (47%) de los que se encontraban colonizados en la primera visita, habían recibido antibióticos por lo menos durante los 7 días previos a la toma de la muestra. En general, de todas las muestras con cepas resistentes, en 36 se documentó el uso de antibióticos previos, los más frecuentemente utilizados fueron: metronidazol y vancomicina en el 47% de los casos, cefepime en el 36%, amikacina, en el 29%, meropenem en el 14% y solo 2 pacientes tuvieron el antecedente de uso de quinolonas (ciprofloxacino y gatifloxacino),

Se documentaron 71 cepas (74%) que correspondían a colonización persistente, es decir que se recuperaron por lo menos en 2 muestras consecutivas de un mismo paciente. De ellas, 43 tenían el antecedente de haber recibido antibióticos previos

($p=0.03$). los gérmenes que más frecuentemente produjeron colonización persistente fueron *E coli* y *K. pneumoniae*, *E. faecium* y *Enterobacter cloacae*. Entre los pacientes que no tuvieron colonización persistente, dos desarrollaron bacteremia y los dos fueron por *E coli*. *P. aeruginosa*, no apareció como germen colonizante persistente en ningún paciente.

Análisis de factores de riesgo de la bacteremia y mortalidad. Se documentaron 17 gérmenes aislados de sangre en 7 pacientes durante el periodo de estudio. Cinco se presentaron como bacteremias polimicrobianas (causadas por 2 organismos). Solo un paciente del grupo de leucemia de reciente diagnóstico, desarrollo bacteremia (causada por *S. haemolyticus*). Los gérmenes aislados de los hemocultivos fueron 14 bacilos gram negativos y 3 cocos gram positivos. De los aislados de *E coli* el 11% presentaron resistencia a cefalosporinas y 22% a quinolonas, de los gérmenes grampositivos, los estafilococos fueron resistentes a oxacilina. La susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de las bacteremias se muestra en la tabla 8.

Se hizo análisis por modelo univariado, donde se encontró como único factor independiente, a la colonización persistente, sin embargo, la abundancia (en UFC) de la cepa colonizante no influyó en el desarrollo de bacteremia. (Ver tabla 9). El uso de antibióticos previos no se asoció al desarrollo de bacteremia en los pacientes neutropénicos.

Se encontró una mortalidad global del 21%. La principal causa de muerte fue la relacionada a la recaída de la enfermedad. Las variables que resultaron significativas en el análisis univariado fueron: el paciente presentara enfermedad oncológica persistente ($p= <0.001$), haber tenido catéter venoso central ($p= 0.001$), el antecedente de haber estado hospitalizado por lo menos 24 hr en el servicio de urgencias ($p= 0.003$), y tener el

antecedente de una hospitalización en los 7 días previos a la toma de la muestra de coprocultivo ($p=002$). (Ver tabla 10)

DISCUSION

Los eventos febriles en los pacientes con neutropenia grave inducida por quimioterapia, tienen una alta mortalidad asociada, por lo que se recomienda iniciar un tratamiento lo más oportunamente posible, con la finalidad de evitar el desarrollo de sepsis y con ello la muerte de estos paciente¹. Esto ha despertado el interés desde hace muchos años, tanto de encontrar estrategias útiles para predecir los gérmenes causantes de bacteremia, así como de medidas de profilaxis útiles.

Es un hecho que el estudio de la profilaxis en estos pacientes ha acaparado la atención de diversos investigadores desde hace más de 20 años. Con el paso de los años y el uso indiscriminado de antibióticos, la utilidad primero del trimetoprim sulfametoxazol y posteriormente de las quinolonas, la proporción de gérmenes resistentes aislados de infecciones adquiridas en la comunidad se han incrementado, y como consecuencia han vuelto ineficientes los esquemas que en algún momento demostraron cierta efectividad sobre la prevención de eventos febriles en estos pacientes¹⁵⁻¹⁷.

El empleo de coprocultivos en estos pacientes, para el seguimiento y evaluación de la respuesta a las terapias de profilaxis, fue bien establecida, sin embargo se dejó de utilizar debido a la laboriosidad de la técnica y a problemas de metodología³⁰⁻³³.

Por lo anterior, la intención del estudio era conocer si los pacientes con leucemia aguda tienen colonización intestinal por gérmenes resistentes a los antibióticos que más frecuentemente se utilizan como parte del tratamiento de los eventos febriles. Incluimos en el estudio 23 pacientes a los que se les siguió de forma prospectiva, semanalmente. Solo 21 tuvieron un seguimiento completo. Encontramos que el 80% del total de pacientes con leucemia aguda, se encuentran colonizados por gérmenes resistentes al momento de ingresar al hospital, aún en aquellos en los que parecería que tienen pocos factores de riesgo para adquirirlos ya que no han sido expuestos al ambiente hospitalario, como son los pacientes en los que al ingreso se les realizó por primera vez el diagnóstico de leucemia. Estas cifras asemejan los patrones de resistencia de los aislados clínicos nosocomiales.

Una posible explicación a este fenómeno es la automedicación de mala prescripción de antibióticos, en el caso de los pacientes con diagnóstico reciente, debido a la automedicación y a la mala prescripción de los eventos febriles como parte de las manifestaciones de la propia enfermedad.

La colonización por gérmenes resistentes en los pacientes con leucemia aguda, parece estar más relacionados a otros factores extra-hospitalarios que necesitan ser estudiados, tales como alimentación, exposición a carne animal suplementada con antibióticos.

Distinguir las diferentes colonias de las diferentes cepas que se desarrollan en los coprocultivos, es de las limitantes más importantes que encontramos en el estudio. La diferenciación se realizó por las diferencias fenotípicas que se tenían de una posible misma especie y posteriormente se confirmaban por los diferentes patrones de

susceptibilidad. La realización de métodos de biología molecular (como electroforesis en gel de campo pulsado o RFLP, entre otros) permitiría hacer la distinción de estas cepas, y aún así probablemente la población que realmente coloniza el intestino es mucho mayor a lo que podemos reconocer. Esta parte del proyecto se realizará en un segundo tiempo. De la misma manera requiere confirmación molecular la identificación de cepas de la misma especie en aislados del coprocultivo y de sangre, para confirmar traslocación bacteriana. Todas estas limitantes hacen poco probable que podamos recomendar el uso de los coprocultivos para diseñar las estrategias de prevención en estos pacientes.

La mortalidad de los pacientes con leucemia, como se ha evidenciado en estudios previos¹, y como lo hemos confirmado en nuestra población¹⁴ dependen de factores relacionados con el control de la leucemia, ya que si esta no está en remisión el riesgo de morir es 7 veces más. La historia de hospitalizaciones previa reciente y la estancia en el servicio de urgencias, son factores relacionados probablemente con la gravedad de la enfermedad.

Se realizó un seguimiento de los pacientes desde que se incluyó el primero hasta el día 30 de septiembre para valorar la supervivencia. En general se tuvo una supervivencia de 240 días en la población estudiada. De los pacientes del grupo 1 tuvieron una media de supervivencia de 94 días y los pacientes del grupo 2 de 184 días. Se analizó la supervivencia en los pacientes que presentaron bacteremia, encontrando una media de 202 días, los pacientes que estuvieron hospitalizados en urgencias la media de supervivencia fue de 188 días. La falta de control de la leucemia se asoció a una media de supervivencia significativamente menor (media de 94 días)

CONCLUSIONES

1. El 80% de los pacientes con leucemia aguda que son atendidos en el Instituto se encuentran colonizados por gérmenes resistentes, aún antes de ser hospitalizados.
2. Los factores de riesgo para la colonización parecen estar relacionado con el ambiente externo al hospital.
3. Los gérmenes resistentes más frecuentes que colonizan el tubo digestivo de estos pacientes son: *E coli*, *K. pneumoniae* y *E. faecium*.
4. El 80% es portador de gérmenes gram negativos productores de beta-lactamasas, sin que estos sean un factor de riesgo asociado a bacteremia.
5. En este estudio encontramos que la colonización persistente por un microorganismo se asoció a bacteremia.
6. Los factores asociados a mortalidad en los pacientes con leucemia aguda fueron: ausencia de remisión de la enfermedad, antecedente de hospitalización previa, haber estado en urgencias por lo menos durante 24 hr, y el haber tenido un catéter venoso central, lo que probablemente refleje de forma indirecta el estado de gravedad del paciente.
7. Los coprocultivos no son una herramienta útil ni práctica para predecir los agentes causales de las bacteremias durante los eventos de febriles de neutropenia grave en los pacientes con leucemia aguda, ni para diseñar estrategias de prevención.

TABLAS

Tabla 1. Definición de variables

Variable	Definición
Sexo	Femenino o masculino
Edad	Edad cumplida según fecha de nacimiento
Leucemia aguda	Leucemia aguda linfóide o mielóide realizado por la presencia de blastos en sangre periférica o en biopsia de hueso además de inmunofenotipo y/o inmunohistoquímica
Fecha de diagnóstico	Fecha en la que se realizó diagnóstico de leucemia aguda
Leucemia aguda	Diagnóstico realizado por presencia de blastos en sangre periférica y en biopsia de hueso con inmunofenotipo para estirpe linfóide o mielóide
Diabetes Mellitus	Según criterios del National Diabetes Data Group of the National Institutes of Health de 1979
Cirrosis hepática	Definida por biopsia o por análisis de laboratorio y cuadro clínico
Insuficiencia renal crónica	Deterioro de la función renal con Cr >2 mg/dL ó Dep. Cr < 50ml/min.
Nadir de la quimioterapia	Días transcurridos entre el primer día de Colonización de la quimioterapia y primer recuento de neutrófilos totales <500 cel/mm ³
Neutropenia grave	Cuenta de neutrófilos totales < 500 cel/mm ³
Neutropenia profunda	Cuenta de neutrófilos totales <100 cel/mm ³
Eventos previos de neutropenia grave febril	Número total de eventos hasta antes del evaluado
Procedimiento invasivo	Colocación de catéter venoso central, sonda nasogástrica, sonda Foley, intubación endotraqueal, procedimiento quirúrgico, endoscopia.
Bacteremia	Fiebre definido como temperatura axilar > 38.5°C: 2 Hemocultivos positivo para <i>Enterococcus sp</i> o <i>Staphylococcus sp</i> ó 1 hemocultivo positivo para gérmenes gram negativos
Bacteremia adquirida en la comunidad	Aquella que se presenta durante las primeras 48 hr de la hospitalización.
Bacteremia por gérmenes resistentes	Gérmenes recuperados de sangre con resistencia a quinolonas o ceftazidima según los criterios de la NCCLS
Sitio de origen de la bacteremia	Documentada por cultivo del mismo germen del hemocultivo o con datos clínicos sugerentes del sitio de infección o secundaria a traslocación bacteriana si se confirma similitud genética de más de 90% entre cepas recuperadas de heces y la de sangre.
Clasificación de severidad de la enfermedad	Puntaje más alto según la clasificación de APACHE II medido en cada visita.
APACHE II	
Estancia en la Unidad de Terapia Intensiva	Estancia en cualquier momento de la hospitalización en la Unidad de Terapia Intensiva
Días de estancia intrahospitalaria	Días de hospitalización desde su ingreso al hospital hasta su egreso independientemente del servicio que recibió al paciente
Uso previo de antibióticos	Uso de antibióticos dentro de los 7 días previos a la toma de la muestra para coprocultivo y por lo menos durante 2 días
Uso de antibióticos para profilaxis	Antibióticos administrados por lo menos 24 hr y hasta 7 días antes del evento febril durante la neutropenia grave con la finalidad de prevenir bacteremia
Colonización transitoria	Germen recuperado en las heces en una sola ocasión durante el periodo de seguimiento
Colonización persistente	Germen recuperado en más de 2 ocasiones consecutivas durante el periodo de seguimiento
Causa de muerte relacionada a infección	Si la muerte fue atribuida a juicio de su médico tratante ser causada por un proceso infeccioso no controlado
Fecha de la última consulta	Fecha en que fue revisado por última vez en el Instituto

Tabla 2. Características basales de los 22 pacientes

Característica	Total de pacientes (n=22)	Diagnóstico reciente (n=10)	Diagnóstico conocido (n=12)
Hombre/mujer No. (%)	9/13 (41/59)	3/7 (30/70)	5/6 (45/55)
Edad (media, rango)	36.4 (15-76)	39.1 (15-63)	33.64 (16-76)
Peso (media, rango)	63 (40-92)	64.5 (40-92)	62.5 (54-80)
Leucemia aguda linfoide No (%)	14 (63)	4 (40)	8 (66)
Leucemia aguda mieloide No (%)	8 (37)	6 (60)	3 (25)
Tiempo de diagnóstico*	1.7 (0-2)	0	1(0.2-2)
Remisión No. (%)	14 (63)	8 (80)	6 (50)
Diabetes mellitus No (%)	5 (22)	2 (20)	3 (25)
Hipertensión arterial No. (%)	3 (13)	2 (20)	1 (8)
Cirrosis hepática No. (%)	2 (9)	1 (10)	1 (8)
Artritis reumatoide No. (%)	1 (4.5)	1 (10)	0
Insuficiencia cardíaca No (%)	1 (4.5)	0 (0)	1 (8)
Cáncer de recto No (%)	1 (4.5)	0 (0)	1 (8)

Tabla 3. Características de los 22 pacientes durante la hospitalización.

Característica	Total de pacientes N=22	Diagnóstico reciente N=10	Diagnóstico conocido N=12
Estancia en urgencias No (%)	17 (77)	9 (90)	8 (66)
Catéter venoso central No (%)	21 (95)	10 (100)	9 (75)
Sonda Foley No. (%)	6 (27)	3 (30)	3 (25)
Bacteremia (episodios)	17	1	16
Infección en otro sitio/persona por visita	8.2 (2-13)	3.4 (2-5)	4.5 (2-8)
Colonización persistente	21 (95)	9 (90)	12 (100)
Uso de antibióticos previos	20 (90)	10 (100)	10 (83)
Duración de la fiebre*	4.2 (1-18)	5.2 (1-18)	3.45 (0-11)
Cuenta total de neutrófilos**	2,214 (4-15,618)	2,923 (39-15,071)	1,963 (4-8,458.5))
Duración de la neutropenia grave*	11.05 (1-37)	9.6 (1-16)	12.36 (0-37)
Curado de la infección	19 (86)	10 (100)	9 (75)
Duración de estancia hospitalaria*	14 (1-23)	9.4 (1-17.6)	5.6 (1-21)
Muerte	6 (27)	2 (20)	4 (33)

* en días ** en células/mm³

Tabla 4. Aislados de los coprocultivos de los 22 pacientes.

Gérmén	Frecuencia (n=419) N (%)	UFC/gr de heces (media)	% de resistencia a quinolonas	% de resistencia a cefalosporinas	% de cepas productoras de BLEE**	% de resistencia a amoxi/clav
Gérmenes gramnegativos						
<i>Escherichia coli</i>	261 (62.2)	5,219	79.7	55	49	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	37 (8.8)	3,034	47.2	47	44.4	72.2
<i>Enterobacter cloacae</i>	29 (6.9)	4,611	6.7	26.7	26.7	90
<i>Morganella morganii</i>	11 (2.6)	7,699	36.4	0	2	100
<i>Citrobacter freundii</i>	6 (1.4)	5,683	16.7	16.7	16.7	100
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5 (1.1)	4,000	0	40	40	80
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 (0.9)	3,333	0	25	0	100
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4 (0.9)	1,700	25	25	25	50
<i>Enterobacter intermedius</i>	1 (0.2)	600	0	0	0	100
<i>Serratia plymuthica</i>	1 (0.2)	700	0	100	100	100
<i>Serratia marscesens</i>	1 (0.2)	10,000	0	0	0	100
<i>Providencia rettgeri</i>	1 (0.2)	10,000	0	0	0	100
<i>Aeromonas veronni</i>	1 (0.2)	700	0	0	0	100
<i>Citrobacter brakii</i>	1 (0.2)	10,000	0	0	0	100
Gérmenes grampositivos						
<i>Enterococcus faecium</i>	35 (8.3)	8,048	100	NA	3	74.3
<i>Enterococcus faecalis</i>	4 (0.9)	7,133	100	NA	0	0
<i>Enterococcus gallinarum</i>	4 (0.9)	7,525	100	NA	1	75
<i>Enterococcus avium</i>	3 (0.7)	10,000	100	NA	0	100

NA= No aplica, ** Beta-lactamasas de espectro extendido

Tabla 5. Cepas aisladas por medio de cultivo en cada muestra semanal

Medio de cultivo selectivo	Número de Muestra					
	1	2	3	4	5	Total
MacConkey con Ceftazidima*	15 (0.59)	19 (0.95)	28 (1.47)	21 (1.05)	13 (1.3)	96 (1.07)
MacConkey con Ciprofloxacino*	19 (0.86)	21 (1.05)	30 (1.05)	28 (1.47)	9 (0.9)	107 (1.06)
MacConkey con Amoxi/clav*	40 (1.86)	42 (2.1)	24 (1.74)	35 (1.84)	14 (1.4)	165 (0.57)
FEA con ciprofloxacino*	5 (0.23)	11 (0.55)	18 (0.95)	11 (0.53)	6 (0.6)	51 (0.57)
Total*	79 (3.5)	93 (4.15)	110 (5.6)	95 (4.8)	42 (4.2)	419 (4.45)

* n,(=promedio de cepas aisladas en un medio /persona

Tabla 6. Colonización por gérmenes resistentes en pacientes con diagnóstico conocido de leucemia (Grupo 1)

Paciente	Inicio de la colonización	Antecedente de antibióticos previos	Colonización persistente (germen)	Duración de la colonización persistente (Visita)	Colonización transitoria (germen)	Colonización por gérmenes productores de BLEE	Bacteremia
1	Visita 1	si	<i>E coli</i>	1 a 4		Si	Si
		si	<i>M morganii</i>	1 a 2			
3	Visita 1	si	<i>E coli</i>	1 a 2	<i>M morganii</i>	Si	No
		no	<i>E faecium</i>	3 a 4			
4	Visita 1	no	<i>E coli</i>	1 a 2		Si	Si
		no	<i>E cloacae</i>	1 a 2			
6	Visita 1	si	<i>E coli</i>	1 a 4		Si	Si
		si	<i>E faecium</i>	1 a 2			
7	Visita 1	si	<i>E coli</i>	1 a 4	<i>E cloacae</i>	Si	Si
		si	<i>E coli</i>	3 a 4	<i>C freundii</i>		
		si	<i>aerogenes</i>	2 a 4	<i>E</i>		
			<i>E faecium</i>		<i>gallinarum</i>		
8	Visita 1	si	<i>E coli</i>	1 a 4	<i>E</i>	Si	Si
					<i>gallinarum</i>		
					<i>E avium</i>		
					<i>E faecium</i>		
10	Visita 1	si	<i>E coli</i>	2 a 4	<i>E cloacae</i>	No	Si
		si	<i>E faecium</i>	1 a 4	<i>P</i>		
					<i>aeruginosa</i>		
					<i>C freundii</i>		
13	Visita 2	si	<i>E coli</i>	2 a 4	<i>E faecium</i>	Si	No
					<i>E</i>		
					<i>gallinarum</i>		
18	Visita 2	no			<i>E coli</i>	Si	No
					<i>K</i>		
					<i>pneumoniae</i>		
					<i>K oxytoca</i>		
					<i>E cloacae</i>		
					<i>C freundii</i>		
					<i>E faecium</i>		
20	Visita 1	si	<i>E coli</i>	1-4	<i>C freundii</i>	Si	No
		si	<i>K</i>	1-3	<i>E faecium</i>		
		si	<i>pneumoniae</i>				
			<i>E faecalis</i>				

Tabla 7. Colonización por gérmenes resistentes en pacientes con diagnóstico reciente de leucemia (Grupo 2)

Paciente	Tiempo de inicio de la colonización	Antecedente de antibióticos previos	Colonización persistente (germen)	Duración del a colonización persistente (visita)	Colonización transitoria (germen)	Colonización por gérmenes productores de BLEE	Bacteremia
2	Visita 1	no	<i>E coli</i>	3-5	<i>K pneumoniae</i> <i>E cloacae</i> <i>A veronii</i> <i>S plymuthica</i> <i>E faecium</i>	si	no
5	Visita 2	si	<i>E faecium</i>	3-5	<i>E coli</i> <i>K pneumoniae</i> <i>E cloacae</i> <i>M morgagnii</i> <i>P retgerri</i>	si	no
11	Visita 1	si	<i>E coli</i>	1 a 5	<i>K oxytoca</i> <i>K pneumoniae</i>	si	no
12	Visita 1	si si no	<i>E coli</i> <i>E cloacae</i> <i>M morgagnii</i>	4 a 5	<i>S marsescens</i> <i>E faecium</i>	si	no
14	Visita 1	si	<i>E coli</i>	1-4	<i>E cloacae</i> <i>E faecalis</i>	si	no
15	Visita 1	si no	<i>E coli</i> <i>M morgagnii</i>	1-3 4-5		si	no
17	Visita 1	si si	<i>K pneumoniae</i> <i>E faecium</i>	1-3 1-4	<i>E coli</i> <i>K oxytoca</i> <i>E cloacae</i> <i>C braakii</i>	si	si
19	Visita 1	si	<i>E coli</i>	1-3	<i>P aeruginosa</i> <i>E cloacae</i> <i>K pneumoniae</i> <i>E faecium</i>	si	no
21	Visita 2	si si no si	<i>E coli</i> <i>K pneumoniae</i> <i>P aeruginosa</i> <i>E faecium</i>	2-4 3-5		si	no
22	Visita 1	si si	<i>E coli</i> <i>E faecium</i>	1-4 2-3	<i>K pneumoniae</i> <i>E avium</i>	Si	no

Tabla 8. Patrones de susceptibilidad de los aislados de las bacteremia

Gérmen	n	Resistencia a quinolonas	Resistencia a cefalosporinas	Resistencia a aminoglicósidos	Resistencia a amoxicilina clavulanato	Resistencia a vancomicina	Resistencia a oxacilina
<i>E coli</i>	9	22	11	0	0	NA	NA
<i>K pneumoniae</i>	2	0	0	0	0	NA	NA
<i>Campylobacter jejuni</i>	2	0	NA	0	0	NA	NA
<i>P aeruginosa</i>	1	0	0	0	100	NA	NA
<i>S aureus</i>	1	0	NA	NA	0	0	100
<i>S haemolyticus</i>	1	0	NA	NA	0	0	100
<i>S oralis</i>	1	0	0	0	0	0	0

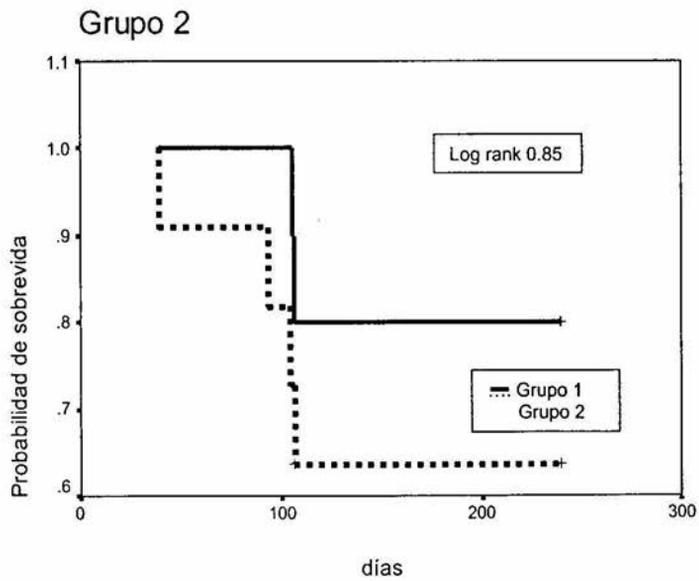
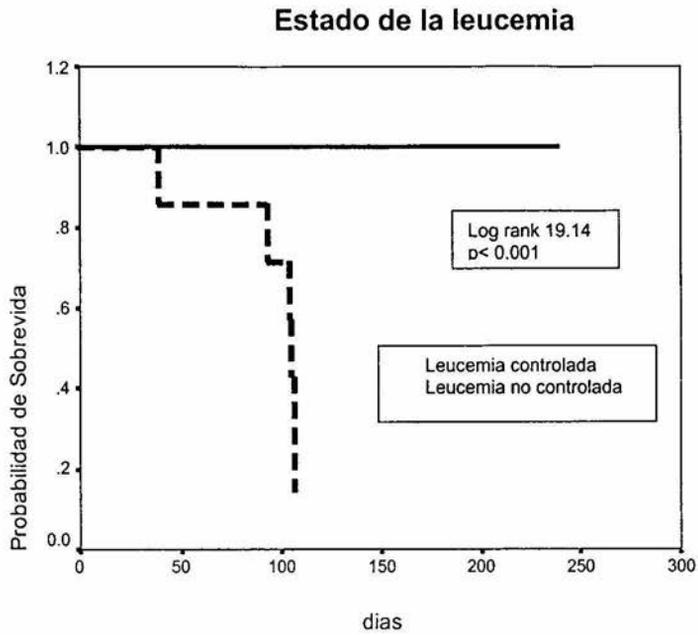
Tabla 9. Análisis univariado para bacteremia

Característica	Bacteremia n	No desarrollo de bacteremia n	Riesgo	Intervalo de confianza al 95%	p
Mujer	4	9	0.3	0.02-3.5	0.3
LAL	3	11	0.6	0.08-5.4	0.5
LAM	2	5	1.4	0.18-11.7	0.5
DM	2	3	2.8	0.32-25.7	0.3
Hospitalización previa	3	6	2.5	0.3-19.5	0.3
Colonización por gérmenes resistentes	5	12	-	-	0.3
Colonización persistente	5	9	-	-	0.09
Remisión	2	12	0.2	0.027-1.8	0.1
Catéter venoso central	4	16	0.1	0.01-1.1	0.2
Estancia en urgencias por más de 24 hr	4	13	0.9	0.74-11.5	0.6

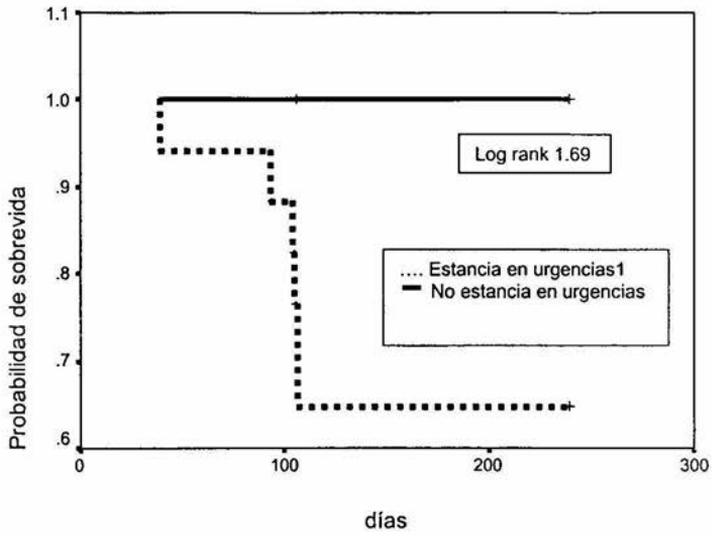
Tabla 10 Análisis univariado para mortalidad de los 20 pacientes evaluables.

Característica	Muerto n	Vivo n	Riesgo	Intervalo de confianza al 95%	p
Mujer	4	9	0.7	0.27-5.4.	0.5
LAL	4	10	1	0.13-7.4	0.6
LAM	2	5	1.	0.6-4.4	0.7
DM	1	4	0.5	0.04-6.2	0.5
Hospitalización previa	5	4	13.7	1.2-156.6	0.02
Colonización por gérmenes resistentes	4	13	0.3	0.03-2.9	0.3
Colonización persistente	3	11	0.3	0.05-2.6	0.2
Bacteremia	2	3	1.09	0.2-16.6	0.4
Remisión	0	14	7	1.14-42.9	<0.001
Catéter venoso central	5	15	-	-	0.001
Estancia en urgencias por más de 24 hr	6	11	-	-	0.003

Curvas de sobrevivencia



Estancia en urgencias



BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Hughes W, Armstrong D, Bodey E, et al. 2002 Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis* 2002;34:730-51.
- ² Kanamaru A, Tatsumi Y. Microbiological data for patients with febrile neutropenia. *Clin Infect Dis*. 2004;39:S7-10.
- ³ Bodey GP, Rodriguez V, Chang H-Y, Narboni G. Fever and infection in leukemic patients: study of 494 consecutive patients. *Cancer* 1978;41:1610-22.
- ⁴ Gurwith MJ, Brunton JL, Lank BA, Ronald AR, Harding GKM. Granulocytopenia in hospitalized patients. Prognostic factors and etiology of fever. *Am J Med*1978;64:121-6.
- ⁵ Zinner SH. Changing epidemiology of infections in patients with neutropenia and cancer: emphasis on gram-positive and resistant bacteria. *Clin Infect Dis* 1999;34:37-43.
- ⁶ González-Barca E, Fernández-Sevilla A, Carratala J et al. Prospective study of 288 episodes of bacteremia in neutropenic cancer patients in a single institution. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996;15:291-6.
- ⁷ Velasco E, Byington R, Martins CS, Schirmer M, Dias LC, Goncalves VM. Bloodstream infection surveillance in a cancer centre: a prospective look at clinical microbiology aspects. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10:542-9.
- ⁸ Mutnick AH, Kirby JT, Jones RN; CANCER Study Group. CANCER resistance surveillance program: initial results from hematology-oncology centers in North America. Chemotherapy Alliance for Neutropenics and the Control of Emerging Resistance. *Ann Pharmacother*. 2003 Jan;37:47-56.
- ⁹ Cherif H, Kronvall G, Bjorkholm M, Kalin M. Bacteraemia in hospitalised patients with malignant blood disorders: a retrospective study of causative agents and their resistance profiles during a 14-year period without antibacterial prophylaxis. *Hematol J*. 2003;4:420-6.
- ¹⁰ Schimpff SC, Aisner J, Wiernik PH. Infection in acute non-lymphocytic leukemia: the alimentary canal as a major source of pathogens. In: van der Waaij D, Verhoef, J eds. *New criteria for antimicrobial therapy: maintenance of digestive tract colonization resistance*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1979;12-27
- ¹¹ Klastersky J, Paesmans M, Rubenstein EB, et al. The multinational association for supportive care in cancer risk index: a multinational scoring system for identify low-risk febrile neutropenic cancer patients. *J Clin Oncol* 2000;18:3030-51.
- ¹² Klaasessen RJ, Goodman R, Pham BA, Doyle JJ. "Low-risk" prediction rule for pediatric oncology patients presenting with fever and neutropenia. *J Clin Oncol* 2000;18:1012-9.

-
- ¹³ **Rozenberg-Arska, Dekker AW, Verhoef J.** Colistin and trimethoprim-sulfamethoxazole for the prevention of infection in patients with acute non-lymphocytic leukaemia. Decrease of emergency of resistant bacteremia. *Infection* 1983;11:167-9.
- ¹⁴ **Ugarte T Alejandra, Villasis K Angelina, Sifuentes-Osornio José, Ponce de León Alfredo.** Utilidad de la profilaxis con quinolonas durante la neutropenia grave inducida por quimioterapia en pacientes con leucemia aguda, en un hospital de tercer nivel de la ciudad de México. *Enf Infec Microbiol* 2004;24:S46.
- ¹⁵ **Verhoef J.** Prevention of infections in the neutropenic patient. *Clin Infect Dis* 1993;17:S359-67.
- ¹⁶ **Cruciani M, Rampazzo R, Malena M, Lazzarini L, et al.** Prophylaxis with fluoroquinolones for bacterial infections in neutropenic patients: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 1996;23:795-805.
- ¹⁷ **Engels EA, Lau J, Barza M.** Efficacy of quinolone prophylaxis in neutropenic cancer patients: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 1998;16:1179-87.
- ¹⁸ **Cruciani M, Malena M, Bosco O, Nardi S, Serpelloni G, Mengoli C.** Reappraisal with meta-analysis of the addition of Gram-positive prophylaxis to fluoroquinolone in neutropenic patients. *J Clin Oncol* 2003;21:4127-37
- ¹⁹ **Rubinstein E, Potgieter P, Davey P, Norrby SR.** The use of fluoroquinolones in neutropenic patients—analysis of adverse effects. *J Antimicrob Chemother.* 1994;34:7-19.
- ²⁰ **Dejace P, Klastersky J.** Emergence of resistance as a consequence of antimicrobial prophylaxis in immunocompromised patients. *Scand J Infect Dis* 1998;49:165-71.
- ²¹ **Patrick CC.** Use of fluoroquinolones as prophylactic agents in patients with neutropenia. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:135-9.
- ²² **Wingard J, Dick J, Charache P, Saral A.** Antibiotic resistant bacteremia in surveillance stool cultures of patients with prolonged neutropenia. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;30:435-39.
- ²³ **Kato M, Bautista A, Ponce de León A, Sifuentes-Osornio J.** Tendencia en el incremento de resistencia antimicrobiana en organismos causantes de bacteremia en un hospital de tercer nivel:1995-2000. *Rev Invest Clin* 2003;55:660-5.
- ²⁴ **Ugarte-Torres A, Ponce de León A, Bobadilla M, Guerrero L, Rolón A, Sifuentes - Osornio J.** Caracterización de las bacteremias por enterococo en un hospital de tercer nivel. *Enf Infec y Microbiol* 2002;22(3):87.
- ²⁵ **Kramer B, Pizzo K, Witesbsky F, Wesley R.** Role of serial microbiologic surveillance and clinical evaluation in the management of cancer patients with fever and granulocytopenia. *Am J Med* 1982;72:561-68
- ²⁶ **Newman K, Schimpff S, Young V, Wiernik P.** Lessons learned from surveillance cultures in patients with acute nonlymphocytic leukemia: usefulness for epidemiologic, preventive and therapeutic research. *Am J Med* 1981;70:423-31.

-
- ²⁷ **Schimpff S, Young V, Greene W, Vermeulen G, Moody M, Wiernik.** Origin of infection in acute nonlymphocytic leukemia: significance of hospital acquisition of potential pathogens. **Ann Intern Med** 1972;77:707-14
- ²⁸ **Gurwth M, Brunton B, Lank A, Ronald R, Harding G.** Granulocytopenia in hospitalized patients. I. Prognostic factors and etiology of fever. **Am J Med** 1978;64:121-26.
- ²⁹ **Daw MA, Munnely P, McCann SR, Daly PA, Falking FR, Kaene CT.** Value of surveillance cultures in the management of neutropenic patients. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 1988;7:742-7.
- ³⁰ **Smith JA, Sherlock CH, Burdge DR.** Feasible method for routine surveillance culture of stools from neutropenic patients. **J Clin Microbiol.** 1984;20:1174-6.
- ³¹ **Cohen ML, Murphy MT, Counts Gw, Buckner CD, Clift RA, meyers JD.** Prediction by surveillance cultures of bacteremia among neutropenic patients treated in a protective environment. **J Infect Dis.** 1983;147:789-93.
- ³² **de Jong PJ, de Jong MD, Kuijper EJ, van der Lelie H.** The value of surveillance cultures in neutropenic patients receiving selective intestinal decontamination. **Scand J Infect Dis** 1993;25:107-13.
- ³³ **Mandell:** Principles and practice of infectious diseases; 5th ed. 2000. Churchill Livingstone Inc. pp 240-48.
- ³⁴ **Hooper D.** New uses for old quinolones and challenge of resistance. **Clin Infect Dis** 2000;30:243-354.
- ³⁵ **Bradford PA.** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Clin Microbiol Rev** 2001; 14:933-51.
- ³⁶ **Baño J, Navarro M D, Romero L, Martínez L, Muniain M, perea E, et al.** Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. **J Clin Microbiol** 2004;42:1089-94.
- ³⁷ **Bonomo, R. A., S. A. Rudin, and D. M. Shlaes.** 1997. Tazobactam is a potent inactivator of selected inhibitor-resistant class A β -lactamases. **FEMS Microbiol. Lett.** 148:59-62.
- ³⁸ **Korten V, Murray BE.** Impact of the fluoroquinolones on gastrointestinal flora. **Drugs** 1993;45:S125-33.
- ³⁹ **Ebner W, Kropec-Hubner A, Daschner FD.** Bacterial resistance and overgrowth due to selective decontamination on the digestive tract. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 2000;19:243-7.

-
- ⁴⁰ **Cormican, M. G., S. A. Marshall, and R. N. Jones.** Detection of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing strains by the Etest ESBL screen. **J. Clin. Microbiol.** 1996;34:1880-1884
- ⁴¹ **Calva J, Sifuentes O, Ceron C.** Antimicrobial resistance in fecal flora: longitudinal community-based surveillance of children from urban México. **Antimicrob Agents Chemother** 1996;40:1699-1702.
- ⁴² **Bruinsma N, Willems R, E. van den Bogaard A, et al.** Different levels of genetic homogeneity in vancomycin-resistant and susceptible *Enterococcus faecium* isolates from different human and animal sources analyzed by amplified-fragment length polymorphism. **Antimicrob Agents Chemother** 2002, 42:502-508
- ⁴³ **Ouellette, M., G. C. Paul, A. M. Philippon, and P. H. Roy.** Oligonucleotide probes (TEM-1, OXA-1) versus isoelectric focusing in β -lactamase characterization of 114 resistant strains. **Antimicrob. Agents Chemother.** 1988;32:397-399
- ⁴⁴ **NCCLS** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 2004;24 **DOC M100S14**