



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA**

HOSPITAL CENTRAL NORTE DE PETRÓLEOS MEXICANOS

**COMPARACIÓN DE ENTEROBACTERIAS BETALACTAMASA DE ESPECTRO
EXTENDIDO (BLEE) EN HEMOCULTIVO Y UROCULTIVO TOMADOS
DURANTE EL 2012, 2013 Y 2014 EN HOSPITAL CENTRAL NORTE DE PEMEX**

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER TÍTULO DE ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

**PRESENTA
MEDICO CIRUJANO: ISAAC MORONES ESQUIVEL**

**DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE OSCAR TERAN GONZALEZ
ASESORES DE TESIS:
DRA. SHEILA VAZQUEZ ARTEAGA
DR. ABRAHAM EMILIO REYES JIMENEZ
DR. LUIS JAVIER CASTRO DE FRANCHIS**

MÉXICO, D.F. JULIO 2015



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.

**COMPARACIÓN DE ENTEROBACTERIAS BETALACTAMASA DE ESPECTRO
EXTENDIDO (BLEE) EN HEMOCULTIVO Y UROCULTIVO TOMADOS
DURANTE EL 2012, 2013 Y 2014 EN HOSPITAL CENTRAL NORTE DE PEMEX**

| INDICE: | Pag. |
|---|------|
| 1. Introducción | 5 |
| 2. Marco teórico | 7 |
| 2.1. Enterobacterias. | 7 |
| 2.1.1. Enterobacterias de importancia clínica. | 7 |
| 2.1.2. Características antigénicas estructurales y de superficie. | 7 |
| 2.1.2.1. Membrana interna. | 7 |
| 2.1.2.2. Espacio periplásmico. | 8 |
| 2.1.2.3. Pared celular de peptidoglucano. | 8 |
| 2.1.2.4. Membrana externa. | 8 |
| 2.1.2.5. Lipopolisacárido. | 8 |
| 2.1.2.6. Cápsula y otros polisacáridos de superficie. | 8 |
| 2.1.2.7. Flagelos. | 9 |
| 2.1.2.8. Fimbrias. | 9 |
| 2.1.3. Virulencia y factores de virulencia. | 9 |
| 2.1.3.1. Adhesinas. | 10 |
| 2.1.3.2. Sistema de secreción y toxinas. | 10 |
| 2.1.3.3. Adquisición de hierro. | 11 |
| 2.1.3.4. Lipopolisacárido y cápsulas. | 11 |
| 2.1.3.5. Plásmidos. | 11 |
| 2.1.4. Mecanismos de resistencia bacteriana. | 12 |
| 2.2. Betalactamasas | 13 |
| 2.2.1. β -lactamasa tipo AMP-C en enterobacterias | 15 |
| 2.2.2. Betalactamasas de espectro extendido | 16 |
| 2.2.3. Tipos de betalactamasa de espectro extendido | 17 |
| 2.2.3.1. TEM | 17 |
| 2.2.3.2. SHV | 17 |
| 2.2.3.3. CTX-M | 17 |
| 2.2.3.4. OXA | 18 |
| 2.2.3.5. Otras BLEES | 18 |
| 2.3. Factores de riesgo para colonización e infección con BLEE | 19 |
| 2.4. Métodos fenotípicos de detección de BLEES | 20 |
| 2.4.1. Métodos de difusión con disco | 20 |
| 2.4.2. Prueba de Epsilon | 21 |
| 2.4.3. Métodos automatizados | 21 |
| 2.4.4. Métodos bioquímicos y moleculares para la caracterización de BLEES | 22 |
| 3. Planteamiento del problema | 23 |
| 3.1. Pregunta de investigación | 23 |
| 4. Justificación | 24 |
| 5. Hipótesis | 25 |
| 6. Objetivos | 25 |
| 7. Material y métodos | 25 |
| 7.1. Diseño | 25 |
| 7.2. Operacionalización de variables | 26 |
| 7.3. Universo de trabajo y muestra | 27 |
| 7.4. Instrumento de investigación | 27 |

| | |
|----------------------------------|----|
| 7.5. Desarrollo de proyecto | 28 |
| 7.6. Límites de tiempo y espacio | 28 |
| 7.7. Cronograma | 29 |
| 8. Implicaciones éticas | 30 |
| 9. Resultados | 31 |
| 10. Discusión | 35 |
| 11. Conclusión | 37 |
| 11.1. Recomendaciones | 38 |
| 12. Organización | 39 |
| 13. Bibliografía | 40 |
| 14. Anexos | 47 |

1.-INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la organización mundial de la salud el incremento en la resistencia antimicrobiana constituye en la actualidad un problema de salud pública a nivel global. En 5 de 6 regiones de la organización mundial de la salud se reporta una resistencia a cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas mayor al 50% para *Escherichia coli* esto mismo se observa para *Klebsiella pneumoniae* en 6 de las 6 regiones para cefalosporinas de tercera generación y en 2 de 6 regiones para carbapenémicos (1). Dos de las enterobacterias más frecuentemente aisladas.

Las enterobacterias que generan resistencia a penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro y monobactámicos por la producción de betalactamasas de espectro extendido son reconocidos como una de las principales causas de infección tanto nosocomial como adquirida en la comunidad. (2). Surgen principalmente debido a mutaciones codificadas por los genes blaSHV, blaTEM, y blaCTX –M encontrándose más de 300 variables, (3). [En México varios estudios han reportado un alta prevalencia de SHV-5 (2).]

Su prevalencia a nivel mundial es variable de acuerdo a las diferentes series reportadas desde 5-8% en Corea, Japón, Malasia y Singapur hasta 30 a 60% en Brasil, Colombia y Venezuela.(3).

Al inicio de la década de 1980, *Klebsiella pneumoniae* fue la primera bacteria capaz de producir una betalactamasa de espectro extendido (BLEE) en una infección nosocomial. El aislamiento original ocurrió en un hospital universitario europeo. A partir de esa fecha los aislamientos de bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido se fueron presentando en Francia, Inglaterra y al final de dicha década en el continente americano. (4)

Desde la década de los 90's el principal productor de betalactamasas de espectro extendido fue *Klebsiella pneumoniae* y brotes nosocomiales fueron en gran medida reportados por este patógeno. (3).

Los cultivos de *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido se han incrementado dramáticamente a partir del siglo 21. (5). Datos colectados en Europa, América y Asia mostraron a *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de BLEE en 7.5-44% y 2.2-13-5% respectivamente. (6).

En el año 2000 en diferentes países incluyendo España, Italia, Grecia, Reino unido y Canadá han mostrado una alarmante tendencia a la resistencia de múltiples antimicrobianos en los organismos productores de betalactamasas aislados de pacientes de la comunidad. (7)

Entre enero del año 2000 y diciembre del 2004, se registraron en el Hospital Nacional de Clínicas de Córdoba Argentina 129 episodios de bacteriemias por enterobacterias: 35% pacientes ambulatorios y 65% hospitalizados. Los focos más

habituales el urinario (29,5%) y el abdominal (13,9%). La enterobacteria aislada con mayor frecuencia en ambas poblaciones fue *Escherichia coli*, con una incidencia media del 53,5%, seguida de *Klebsiella* spp. (21,7%) y *Enterobacter* spp. (12,4%). Las bacteriemias por *Klebsiella* spp. Fueron más comunes en la unidad de terapia intensiva. (8).

En el hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” en Monterrey, México, de 2006-2009 se reportan como microorganismos productores de betalactamasas de espectro extendido 35.9% de *Klebsiella pneumoniae*, 35.6 % de *Enterobacter cloacae*, 30 % de *Escherichia coli* y 20.5 % de *Serratia marcescens*. (2). En este mismo hospital en 2012 se evalúan los factores de riesgo para el desarrollo de BLEE concluyendo que el uso previo de cefalosporinas de amplio espectro fue el factor de riesgo más importante para la producción de estos microorganismos. (9).

En el hospital civil de Guadalajara entre octubre de 2010 y 2011 un total de 75 *Escherichia coli* y 21 *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido fueron aisladas lo que representa una prevalencia de 16.3% y 26.9% respectivamente (10).

Determinar la prevalencia de enterobacterias que expresan betalactamasas de espectro extendido así como el comportamiento a través de los años, favorece a generar estrategias para el control de infecciones y nos concientiza de la importancia del adecuado uso de antibióticos, y de esta manera contribuir a controlar el emergente problema de salud pública que representa la resistencia antibióticos, así como estas estrategias una vez implementadas, impactan en el pronóstico del paciente, en el acortamiento de la estancia hospitalaria, y por tanto en costos de salud.

2.- MARCO TEÓRICO

2.1. Enterobacterias

Las enterobacterias que desarrollan resistencia a las penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro y monobactamas, por la producción de betalactamasas de espectro extendido, se han reconocido como una de las principales causas tanto de infección nosocomial como de infecciones adquiridas en la comunidad (2). La familia Enterobacteriaceae constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, las Bacterias que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae son bacilos Gram negativas, por lo general de 1-3 μm de largo y 0,5 μm de diámetro (11). Características típicas y distintivas de las enterobacterias: Son no formadores de esporas, anaerobios facultativos, fermentan glucosa y otros azúcares, reducen nitratos a nitritos y producen catalasa pero (con excepción de *Plesiomonas*) no producen oxidasa. La mayoría son móviles (con flagelos peritricos) (12).

2.1.1 Enterobacterias de importancia clínica

Las enterobacterias de mayor importancia clínica son *Citrobacter (freundii, koseri, amalonaticus)*, *Edwardsiella (tarda)*, *Enterobacter (cloacae, albertii, alvei)*, *Escherichia (coli, albertii)*, *Hafnia (alvei)*, *Klebsiella (pneumoniae, oxytoca, granulomatis)*, *Morganella (morganii)*, *Pantoea/Enterobacter (agglomerans)*, *Plesiomonas (Shigelloides)*, *Proteus (mirabilis, vulgaris)*, *Providencia (stuartii, rettgeri)*, *Salmonella (enterica)*, *Serratia (marcesces)*, *Shigella [que pertenece dentro de las especies de Escherichia coli](13) (dysenterii, flexneri, sonnei, boydii)*, *Yersinia (pestis, enterocolitica, pseudotuberculosis)*.(11).

Las enterobacterias son causa de infecciones tanto nosocomial como adquirida en la comunidad. Esas comprenden la mayoría de bacterias Gram negativas aisladas en cultivos, incluyendo la gran mayoría de urocultivos, una gran proporción de hemocultivos, de cavidad peritoneal, y tracto respiratorio (12). Las diferentes proporciones varían de acuerdo a la bibliografía aunque aproximadamente son las responsables de una tercera parte de los aislamientos en las bacteriemias, dos tercios de los aislamientos en gastroenteritis, y tres cuartas partes de los aislamientos en infecciones del tracto urinario (8).

2.1.2 Características antigénicas estructurales y de superficie

2.1.2.1 Membrana interna

Es impermeable a moléculas polares, regula el paso de nutrientes, metabolitos, macromoléculas e información que entra y sale del citoplasma, y mantiene la fuerza

motriz protónica requerida para el almacenamiento de energía. Las proteínas de la membrana interna entre otras funciones tienen bombas de expulsión que eliminan toxinas y antimicrobianos (12). Además de contar con proteínas de señalización que relacionan estímulos externos con cambios en la transcripción génica (14).

2.1.2.2 Espacio periplásmico

Entre las membranas interna y externa se encuentra el periplasma, contiene una elevada concentración de proteínas, y el peptidoglucano, se encuentra una variedad de categorías funcionales de proteínas, entre ellas las oxidoreductasas de disulfuro, peptidil-prolil isomerasas, chaperonas y proteasas implicadas en el plegamiento y la degradación de las proteínas entre sus funciones hay enzimas desintoxicantes, y enzimas implicadas en la biogénesis de peptidoglucano, lipopolisacárido y la cápsula (12).

2.1.2.3 Pared celular de peptidoglucano

se compone de una capa delgada de peptidoglucano (mureína), que consiste en aminoazúcares alternantes de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico unidos mediante enlaces β -1,4 con un péptido corto compuesto por L-alanina, ácido D-glutámico, ácido L-meso-diaminopimélico y D-alanina unida al grupo carboxilo del ácido murámico. Es responsable de la forma y la estabilidad osmóticas del microorganismo (12).

2.1.2.4 Membrana externa

Es una bicapa, lipídica asimétrica, compuesta por una hoja interna de fosfolípidos, y una hoja externa lipopolisacárido. Contribuye a la protección frente a varios detergentes (incluidas las sales biliares), tinciones (incluido el azul de metileno) y antibióticos hidrófobos (15).

2.1.2.5 Lipopolisacárido

Tiene tres dominios principales: el esqueleto de lípido A, el oligosacárido fosforilado central («core») y las cadenas laterales de oligosacárido de repetición (16).

El lípido A (endotoxina), es la parte biológicamente activa de la molécula reconocida por huésped. El oligosacárido de repetición unido al lipopolisacárido se conoce como antígeno O. el cual se utiliza para clasificar en serogrupos (12). (Por ejemplo *Escherichia coli* cuenta con más de 170 serogrupos de antígeno O. (17)).

2.1.2.6 Cápsula y otros polisacáridos de superficie

Las enterobacterias en general producen polisacáridos de superficie adicionales, como el antígeno común enterobacteriano, la capsula (envoltura de polisacárido de superficie) y ácido colánico (se asemeja en muchos aspectos a un subconjunto de

tipos de cápsula) (12). Las cápsulas varían mucho en cuanto a su estructura química y son la base del esquema de serotipificación del antígeno K (17).

2.1.2.7 Flagelos

La mayor parte de las enterobacterias son móviles, esto a través de flagelos los cuales son apéndices superficiales, flexibles que rotan e impulsan las bacterias a entornos líquidos, compuestos de una matriz helicoidal hueca de una proteína llamada flagelina. El centro de la molécula que se expone a la superficie es sumamente variable dicha variedad está representada en el esquema de tipificación del antígeno H, el tercer componente de la serotipificación O:K:H (12). Es reconocida por el sistema inmunitario innato del huésped, lo lleva al reclutamiento de neutrófilos y la iniciación de una respuesta proinflamatoria (18).

2.1.2.8 Fimbrias

Son apéndices superficiales adicionales denominados fimbrias. Tienen diversas funciones, entre ellas: la adhesión a las células del huésped, la autoagregación y el intercambio genético mediante conjugación (a través de plásmidos los cuales albergan genes de virulencia, transposones y genes de resistencia a los antibióticos, codificando pili que median el contacto intercelular con la consiguiente transferencia de ADN). Hay varios tipos de fimbrias, que se distinguen por la morfología, las rutas de biosíntesis y la función. Como las fimbrias chaperona («acompañante»)-acomodador que comprende los pili de tipo 1 ubicuos, en la que la adhesina puede estar en el extremo distal de la punta (12). Los pili de tipo IV pueden retraerse, y generar un tipo de locomoción bacteriana denominada “motilidad a sacudidas” (twitching motility) (19).

2.1.3 Virulencia y factores de virulencia

La habilidad para causar enfermedad de las diferentes enterobacterias es muy variable. Abarca flora comensal raramente nociva, patógenos oportunistas que pueden infringir una morbilidad y mortalidad considerable, y los principales patógenos que pueden inducir enfermedad en individuos en perfecto estado de salud (12).

Se considera factor de virulencia a todo rasgo que se encuentra específicamente en cepas de un microbio que causa enfermedad (12); por lo que la inactivación específica del gen(s) asociado con la sospecha de rasgo de virulencia debería conducir a una pérdida medible en la patogenicidad o virulencia, el gen(s) asociado con la supuesta rasgo de virulencia debe ser aislado por métodos moleculares. La inactivación específica o delección del gen(s) deben conducir a la pérdida de la función en el clon (20).

Al considerar los factores de virulencia, resulta útil la entrada, establecimiento y multiplicación, evitación de los mecanismos de defensa del huésped, lesión tisular y salida (12).

2.1.3.1 Adhesinas

La adherencia inicial del patógeno a las células huésped es un requisito previo absoluto para la enfermedad. Favorecen la adhesión microbiana de una manera selectiva a receptores afines, con el objeto de vencer la repulsión electrostática que resulta de la carga negativa tanto en las células huésped como en las microbianas.

La adhesina fimbrial de tipo 1, se une a residuos de manosa encontrados en las glucoproteínas y glucolípidos de las superficies de las células huésped. Se ha demostrado que los pili de tipo 1 son críticos para la colonización y la enfermedad.

También sirven como adhesinas una variedad de proteínas de membrana externa de la familia de proteínas invasina-intimina las cuales se insertan en la membrana externa a través de sus terminales amino, la parte membranaria de estas moléculas se conecta a través de una región bisagra flexible con un bastón rígido compuesto por unidades de repetición (12).

2.1.3.2 Sistema de secreción y toxinas

Las toxinas se liberan al medio ambiente o se dirigen a las células huésped. Las toxinas de las enterobacterias no suelen reproducir completamente la enfermedad en ausencia de las bacterias que las producen por lo que desempeñan a menudo papeles secundarios o desconocidos en la patogenia, se pueden clasificar en base a la función, objetivo, la actividad o la similitud estructural. Requieren de maquinarias de secreción específicas para su exportación (12).

El sistema de secreción de tipo I se compone de una adenosina trifosfatasa integral de membrana interna (HlyD) y otra proteína integral de membrana interna (HlyB), ambas capaces de reconocer una señal de secreción en el terminal carboxilo y unirse a la proteína hemolisina (toxinas susceptibles de causar la lisis de las células huésped). La cual se inserta en las membranas de las células huésped, e induce la lisis mediante un mecanismo aún no determinado.

El sistema de secreción de tipo III (T3SS), no solo exporta proteínas a través de la membrana bacteriana, sino que también inyecta en su interior a través de dicha membrana (21). Muchas bacterias Gram negativas comparten esta habilidad de inyectar factores de virulencia directamente dentro de las células eucariotas, a través de un complejo mecanismo macromolecular, compuesto por más de 20 diferentes proteínas (22). Estas nanojeringas moleculares, abarcan múltiples membranas con estructuras del tamaño de organelos supramoleculares, que se albergan en un estrecho canal a través del cual, los sustratos viajan dependientes de energía (ATP) (23). Entre estos sustratos o “proteínas efectoras” figuran los receptores de adhesinas bacterianas, entre otras (12).

2.1.3.3 Adquisición de hierro.

Es necesario para casi todos los microorganismos como cofactor para varias enzimas indispensables. Los patógenos enterobacterianos han desarrollado diversos sistemas muy eficientes para competir por la captación del hierro con su huésped. Estos sistemas están bajo el control de una proteína reguladora llamada Fur, que activa la transcripción génica con concentraciones bajas de hierro.

Muchos miembros de la familia Enterobacteriaceae producen un sideróforo (moléculas de bajo peso molecular que quelan hierro) como la enterobactina, así mismo cepas de *Escherichia coli* en infecciones extraintestinales generan aerobactina (sideroforos codificado por plásmidos). Es común a todos estos sistemas de recaptación de hierro, y también a sistemas para el transporte de nutrientes tales como vitamina B12, una proteína de la membrana citoplásmica llamada TonB, punto de convergencia en las rutas enterobacterianas de recaptación de hierro y un posible objetivo farmacológico (12).

2.1.3.4 Lipopolisacárido y cápsulas

Los lipopolisacáridos tienen diferentes composiciones químicas y diversas actividades y potencia biológicas. El antígeno O, componente muy variable de los lipopolisacárido es fundamental para la patogenia e inmunidad de infecciones enterobacterianas.

La extraordinaria potencia del lipopolisacárido enterobacteriano como un inductor de la respuesta inmunitaria innata se debe a la señalización a través del receptor tipo Toll 4, factor primordial para determinar la evolución de las bacterias gramnegativas.

Algunas cápsulas dotan a la bacteria de la capacidad de evitar la fagocitosis, en modelos animales se ha sugerido un papel de la cápsula en la patogenia de infecciones particulares (12), como las cápsulas K2 de *Escherichia coli* importante para la colonización del tracto urinario, ya que proporciona protección contra la muerte mediada por el complemento (24).

2.1.3.5 Plásmidos

No son factores de virulencia en sí mismos. Sin embargo, desempeñan un papel importante en la patogenia ya que en estos se codifican genes fundamentales como los del sistema de secreción tipo 3, el sistema de secreción tipo 2, el pilus de tipo IV. Además tienen capacidad para transferir información entre géneros dispares. La aparición y diseminación de plásmidos R con amplio intervalo de huéspedes que contienen genes de resistencia antimicrobiana ha sido un factor fundamental en la diseminación global de bacterias resistentes a múltiples antibióticos (12).

2.1.4 Mecanismos de resistencia bacteriana

Entendemos por resistencia bacteriana la condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico (24).

La resistencia a los antibióticos constituye un problema serio de Salud Pública en el mundo, especialmente en cuando no existen políticas apropiadas para la utilización de estos fármacos, contribuyendo a su uso indiscriminado y la aparición de cepas bacterianas multirresistentes, transmisibles y que se diseminan rápidamente.

Los tipos de resistencia puede ser por: Resistencia natural.- Mecanismos permanentes determinados genéticamente, no correlacionables con el incremento de dosis del antibiótico; Resistencia adquirida.- Aparece por cambios puntuales en el DNA; Resistencia relativa o intermedia.- Se produce un incremento gradual de la MIC (concentración inhibitoria mínima) a través del tiempo. Para obtener un efecto terapéutico eficaz es necesario alcanzar niveles séricos y tisulares adecuados; Resistencia absoluta.- incremento súbito en la MIC de un cultivo durante o después de la terapia; Pseudoresistencia.- Se puede observar una resistencia *in vitro* pero una gran efectividad *in vivo* (26).

Como mínimo, se han descrito ocho mecanismos característicos de resistencia antimicrobiana en las bacterias los cuáles se resumen en la (Tabla 1) (12).

| Tabla 1. Los ocho principales mecanismos de resistencia por clase antimicrobiana | | | | | | | | | | | |
|--|-------------|----------------|---------------|-----------|-----------|--------------|-------------|-----------|--------------|------------------------------|-------------|
| Mecanismo | B-lacamasas | Aminoglucosido | Cloramfenicol | Macrolido | Sulfamida | Tetraciclina | Trimetoprim | Quinolona | Glucopéptido | Lincosamida, estreptogramina | Rifampicina |
| Alteración enzimática | +++ | +++ | +++ | +(GN) | - | - | - | + | - | - | - |
| Disminución de la permeabilidad | +(GN) | +(GN) | +(GN) | ++(GN) | - | +(GN) | +(GN) | +(GN) | ++(GN) | +(GN) | - |
| Bomba de expulsión | + | + | + | ++ | - | +++ | - | + | - | - | - |
| Alteración del lugar diana | ++ | ++ | - | +++ | ++ | +(H. pylori) | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Protección del lugar diana | - | - | - | - | - | ++ | - | + | - | - | - |
| Sobreproducción de diana | - | - | - | - | ++ | - | ++ | - | + | - | - |
| Evitación del proceso de inhibición | - | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - |
| Unión al antibiótico | - | - | - | - | - | - | - | - | ++ | - | - |
| +++ mecanismo muy frecuente, ++ frecuente, + menos frecuente, - ausente, GN gramnegativos, H. pylori Helicobacter pylori | | | | | | | | | | | |
| Fuente: tomada de.- MANDELL, G.L.; BENNET J.E.; ET AL. 2010 Principles and Practice of Infectious Diseases 7ma Edicion. Philadelphia, Churchill livingstone elsevier. Vol 2. ISBN: 978-0-4430-6839-3 | | | | | | | | | | | |

La resistencia de los bacilos Gram-negativos a los antibióticos betalactámicos puede ser debida a varios mecanismos, que en ocasiones se asocian:

1. Alteraciones de la permeabilidad: Generalmente por mutaciones que afectan a las porinas, se produce una disminución de la concentración del antibiótico en el interior de la célula
2. Producción de enzimas: Hidrolisis del antibiótico por las betalactamasas, la producción de betalactamasas es el mecanismo de resistencia más importante frente a los antibióticos betalactámicos. Son enzimas de naturaleza proteica cuya síntesis está controlada por un gen, bien cromosómico o bien transferido por plásmidos.
3. Alteraciones en el lugar de acción: Las mutaciones que dan lugar a la pérdida de porinas específicas pueden acontecer en los aislamientos clínicos y determinan la mayor resistencia a los antibióticos betalactámicos.
4. Expresión de bombas de eliminación activa: Son bombas de flujo que bombean al antimicrobiano al exterior, se reconoce cada vez más como un mecanismo habitual de resistencia en muchos patógenos relevantes desde un punto de vista clínico (12,27, 28).

2.2. Betalactamasas

Las betalactamasas o penicilin amido-beta-lactamhidrolasas (EC 3.5.2.6) han sido definidas por el Nomenclature Committee of the Internacional Union of Biochemistry como “enzimas que hidrolizan amidas, amiditas y otras uniones C-N” (27).

Son aquellas enzimas que se caracterizan por conferir resistencia a Penicilinas, Cefalosporinas, Cefamicinas, Carbapenems y Monobactámicos. (25). La hidrólisis de β -lactámicos por medio de enzimas β -lactamasas es el mecanismo de resistencia más común para esta clase de antibióticos en bacterias Gram-negativas. (29).

Muy probablemente, coevolucionaron con las bacterias como mecanismos de resistencia frente a los antibióticos naturales con el tiempo, y la presión selectiva ejercida por el uso difundido de antimicrobianos en la medicina moderna podría haber acelerado su desarrollo y propagación.

En 1940 se describió la primera b-lactamasa como una «penicilinasas» capaz de hidrolizar la penicilina en *E. coli*, aproximadamente al mismo tiempo que, en un estudio publicado, se describió el primer uso clínico del antibiótico. (12) (30).

Existen diferentes tipos de clasificación, de acuerdo con su estructura de aminoácidos en cuatro clases moleculares, A-D, o clasificación de Ambler, (Tabla 2). O de acuerdo a la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros que divide las enzimas en varios grupos funcionales de acuerdo con el perfil de su sustrato y

sensibilidad a los inhibidores de la b-lactamasa, como el ácido clavulánico (Tabla 3) (26).

| Tabla 2. Clasificación de Ambler de las betalactamasas | | | | |
|--|---|---------------------------|---|---|
| Clase | Lugar activo | Tipo de enzima | Sustratos | Ejemplos |
| A | Serina | Penicilinasas | | |
| | | Amplio espectro | Benzilpenicilina, aminopenicilinas, carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas de espectro reducido. | PC1 en <i>Staphylococcus aureus</i> TEM-1, SHV-1 en <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> y otras bacterias gramnegativas |
| | | Espectro extendido (BLEE) | Sustratos de b-lactámicos de amplio espectro más oximina (cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona) y aztreonam. | En enterobacterias: TEM-derivadas, SHV-derivadas, CTX-M derivadas; PER-1, VEB-1, VEB-2, GES-1, GES-2, IBC-2 en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| | | Carbapenemasas | Sustratos de espectro extendido más cefamicinas y carbapenemes | KPC-1, KPC-2, KPC-3 en <i>K. pneumoniae</i> ; NMC/IMI, familia SME |
| B | Metalo-B-lactamasas (Zn ²⁺) | Carbapenemasas | Sustratos de espectro extendido más cefamicinas y carbapenemes | IMP, VIM, GIM, SPM, linajes SIM en <i>P. aeruginosa</i> , especies de <i>Acinetobacter</i> |
| C | Serina | Cefalosporinasas | Sustratos de espectro extendido más cefamicinas y carbapenemes | Enzimas AmpC en enterobacterias y <i>Acinetobacter baumannii</i> |
| D | Serina | Oxacilinasas | | |
| | | Amplio espectro | Aminopenicilinas, ureidopenicilinas, cloxacilina, metilicina, oxacilina y algunas cefalosporinas de espectro reducido | Familia OXA en <i>P. aeruginosa</i> |
| | | Espectro extendido | Sustratos de amplio espectro más b-lactámicos oximino y monobactam | OXA-derivados en <i>P. aeruginosa</i> |
| | | Carbapenemasas | Sustratos de espectro extendido más cefamicinas y carbapenemes | OXA-derivados en especies de <i>Acinetobacter</i> |

Fuente: tomada de.- MANDELL, G.L.; BENNET J.E.; ET AL. 2010 Principles and Practice of Infectious Diseases 7ma Edicion. Philadelphia, Churchill livingstone elsevier. Vol 2. ISBN: 978-0-4430-6839-3

| Tabla 3. Clasificación funcional de Bush-Jacoby-Medeiros de las b-lactamasas | | | | |
|--|-------------------------|----------------------------|-----------------|---|
| Grupo | Tipo de enzima | Inhibición por clavulanato | Clase molecular | Ejemplos |
| 1 | Cefalosporinasa | No | C | Enterobacter cloacae P99 (C), MIR-1 (P) |
| 2 a | Penicilinasas | Si | A | Bacillus cereus, Staphylococcus aureus (B) |
| 2 b | Amplio espectro | Si | A | SHV-1 (B), TEM-1 (P) |
| 2 be | Espectro extendido | Si | A | Klebsiella oxytoca K1 (C), TEM-3 (P), SHV-2 (P) |
| 2 br | Resistente al inhibidor | Disminución | A | TEM-30 (IRT-2) (P) |
| 2 c | Carbenicilinasas | Si | A | AER-1 (C), PSE-1 (P), CARB-3 (P) |
| 2 d | Cloxacilinasas | Si | D o A | Streptomyces cacaoi (C), OXA-1 (P) |
| 2 e | Cefalosporinasa | Si | A | Proteus vulgaris (C), FEC-1 (P) |
| 2 f | Carbapenemasa | Si | A | IMI-1 (C), NMC-A (C), Sme-1 (C) |
| 3 | Carbapenemasa | No | B | Stenotrophomonas maltophilia L1 (C), IMP-1 (P) |
| 4 | Penicilinasas | No | A | Burkholderia cepacia (C), SAR-2 (P) |

Fuente: tomada de.- MANDELL, G.L.; BENNET J.E.; ET AL. 2010 Principles and Practice of Infectious Diseases 7ma Edición. Philadelphia, Churchill livingstone elsevier. Vol 2. ISBN: 978-0-4430-6839-3

Debido a su importancia e implicación clínica se describen a continuación los siguientes mecanismos: β -lactamasa tipo AMP-C, β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas

2.2.1 β -lactamasa tipo AMP-C en enterobacterias

Las enzimas de clase C incluyen la b-lactamasa determinada por el gen cromosómico ampC de Escherichia coli K-12, que comparte una amplia homología de secuencia con b-lactamasas mediadas cromosómicamente de especies de Shigella y Klebsiella. Estas enzimas son grandes proteínas (peso molecular, del orden de 39.000) con actividad principalmente cefalosporinasa (12).

Estas β -lactamasas se caracterizan en su mayoría por:

- Son resistentes a inhibidores (Ac. clavulánico, sulbactam y tazobactam).
- Son activas sobre aztreonam, cefamicinas (como cefoxitina) y cefalosporinas de primera, segunda generación y en menor medida a cefalosporinas de tercera. Las cefalosporinas de cuarta generación son las más estables.
- Son inhibidas por aztreonam, cloxacilina, oxacilina y ácido borónico.

La producción de AmpC puede ser constitutiva o inducible, siendo los niveles de producción dependientes del grado de expresión del gen blaAmpC. Algunos organismos de importancia clínica que contienen Amp-C cromosómica son: *Enterobacter* spp, *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp, *Morganella morganii* y *Providencia*, por lo que muestran resistencia natural a algunos antibióticos β -lactámicos como cefalosporinas de primera generación y aminopenicilinas. La sobreexpresión de AmpC puede causar resistencia a cefalosporinas de tercera generación (cefotaxime, ceftazidime y ceftriaxone), carboxipenicilinas y acilureido

penicilinas, determinando además disminución de la sensibilidad a cefalosporinas de cuarta generación (29).

Los siguientes son criterios de sospecha para la presencia de enzimas de este tipo:

- Aislamientos con resistencia a cefalosporinas de tercera generación, que presenten una prueba confirmatoria de BLEE negativa
- Sensibilidad intermedia o resistencia a amoxicilina-ácido clavulánico y a cefalosporinas de tercera generación sugieren la presencia de AmpC plasmídica con sensibilidad completa o reducida a cefalosporinas de cuarta generación.
- Aislamientos con resistencia a cefoxitina.
- Achatamiento del halo de inhibición de cefalosporinas de tercera generación (cefoxitina, ceftazidima) observado en las proximidades del disco de un buen inductor (ampicilina, cefoxitina, imipenem y ácido clavulánico) es característico de todos los microorganismos productores de β -lactamasa cromosómica inducible tipo AMPC. (29).

2.2.2 Betalactamasas de espectro extendido

Son enzimas de configuración plasmídica, producidas por enterobacterias que hidrolizan los antibióticos betalactámicos, incluyendo los que contienen el grupo oximino, como las cefalosporinas de tercera, y monobactámicos (como aztreonam), pero no cefamicinas (cefoxitina y cefotetan) ni carbapenémicos. (31) (7).

El desarrollo de betalactamasas de espectro extendido se encuentran predominantemente en especies de *Klebsiella* y *Escherichia coli*, pero se han descrito en otras especies, así, como *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus* (2).

La primera betalactamasa codificada por plásmidos en microorganismos Gram-negativos, la conocida como enzima TEM-1, se describió en 1965. Se sabe que esta enzima esta mediada por plásmidos y transposones lo que ha facilitado el paso de la misma a otras especies bacterianas (actualmente en *Enterobacteriaceae*, *pseudomona aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria gonorrhoeae*). Surgen principalmente debido a mutaciones codificadas por los genes blaSHV, blaTEM, y blaCTX –M encontrándose más de 300 variables, (3).

La primera descripción de una betalactamasa plasmídica con un perfil de resistencia a la cefalosporina de tercera generación pero sensible a cefoxitina se encontró en Alemania (32) se comprobó durante dicho estudio que la producción de la betalactamasa plasmídica fue transferible derivada de SHV-1 y se denominó a esta SHV-2 (3).

2.2.3 Tipos de betalactamasa de espectro extendido

Habitualmente las BLEEs derivan de las enzimas TEM o SHV y puede haber mutaciones puntuales en el gen que las codifica lo que incrementa el espectro fenotípico. A continuación se describirán los diferentes tipos de betalactamasas de espectro extendido.

2.2.3.1. TEM

La primera TEM-1 reportada fue en 1965 de un aislamiento de *Escherichia coli* de una paciente en Atenas llamada Temoneira (33). La expresión de una betalactamasa tipo TEM-1 es el mecanismo más común de resistencia a los betalactámicos entre las bacterias gramnegativas (34).

Se han descrito en géneros de familia Enterobacteriaceae como *Enterobacter aerogenes* (35), *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* (36), *Providencia rettgeri* (37) y *Salmonella spp.* (38).

La TEM-1 es una enzima capaz de hidrolizar la ampicilina en mayor intensidad que la carbapenicilina, oxacilina o cefalotina y tiene una actividad mínima en contra de las cefalosporinas de espectro extendido. Se inhibe por el ácido clavulánico. TEM-2 tiene el mismo perfil hidrolítico que TEM-1 pero difiere en tener un promotor nativo más activo y por diferencia en un punto isoelectrónico. (5.6 comparado con 5.4) (39)

La TEM-3 descrita por primera vez en 1988, fue la primera betalactamasa de tipo TEM que mostro un fenotipo propio de una BLEE (40)

2.2.3.2 SHV

Su nombre va en relación al término de variable sulfhidrilo. Generalmente se encuentra en *K. pneumoniae*, siendo responsable de más del 20% de la resistencia a ampicilina mediada por plásmidos en esta especie. Son las enzimas más frecuentemente aisladas (41).

El gen que codifica la SHV-1 comparte un 65% de identidad con el de TEM-1 (42) Se asocia con un gran incremento de la CMI de cefotaxima y un incremento moderado en la concentración mínima inhibitoria de ceftazidima respecto a las concentraciones mínimas inhibitorias de SHV-1 para estos mismos antibióticos. (43).

En Estados Unidos SHV- 4 y SHV- 5 se están convirtiendo en los tipos predominantes de BLEE encontradas en aislados nosocomiales de *Klebsiella pneumoniae*. En Alemania, SHV- 2 y SHV- 5 parecen ser predominante; y en Francia, SHV- 3, SHV- 4, y TEM - 3 son más comunes. SHV- 2 está muy extendida a nivel internacional (44).

2.2.3.3 CTX-M

Adquiere su nombre por su potente actividad hidrolítica contra la cefotaxima (3). También es conocida su resistencia hacia cefuroxima y cefepime. Los

microorganismos productores de BLEEs de tipo CTX-M típicamente tienen CMI para cefotaxima en rango de resistencia (>64 µg/ml) mientras que las CMI para ceftazidima están en rangos aceptables (2-8 µg/ml) (45) (46).

Son inhibidas mejor por tazobactam que por sulbactam o ácido clavulánico. Se han descrito en cepas de *Salmonella enterica* serovar, *Typhimurium* y *Escherichia coli* pero también en otras especies de Enterobacteriaceae. (47).

El residuo serina en la posición 237, presente en todas las CTX-M, tiene un papel importante en la actividad de las betalactamasas de espectro extendido. Se incluye en este grupo las siguientes betalactamasas: CTX-M1, CTX-M2, CTX-M9, CTX-M10, CTX-M31, enzimas Toho-1 y Toho 2 las cuales son unas betalactamasas que están relacionadas de forma estructural a las CTX-M, así que al igual que estas tienen una actividad hidrolítica potente contra la cefotaxima y ceftazidima (48) (49).

2.2.3.3 OXA

Las betalactamasas de tipo OXA reciben este nombre por su capacidad de hidrolizar las oxacilinas. Se incluyen en el grupo 2d y se caracterizan por que confieren resistencia a ampicilina y cefalotina, tienen la capacidad de llevar a cabo hidrolisis tanto de cloxacilina como de oxacilinas mayores al 50% y suelen ser inhibidas por el ácido clavulánico. (26) Las BLEEs tipo OXA ocurren de forma casi predominante en *Pseudomonas aeruginosa* (50) pero se han detectado también en algunas otras bacterias Gram negativas.

2.2.3.4 Otras BLEES

Recientemente se han descubierto una variedad de betalactamasas que se median por plásmidos o asociadas a integrones de enzimas clase A. (51) (52) Estas enzimas no han podido clasificarse dentro de ninguna de las familias típicas. La PER-1 se describió por primera vez en *Pseudomonas aeruginosa* aislándose en un paciente en Turquía. (53). Representa el 60% de resistencias a ceftazidima en *A. baumannii*. Este tipo de betalactamasa hidroliza las penicilinas y las cefalosporinas de forma eficiente y suelen ser susceptibles a la inhibición con ácido clavulánico. (54) La enzima PER-2 con un parecido genético a la enzima PER-1 de un 86% se describió por primera vez en Argentina en un cultivo de *S. typhimurium*. Estas enzimas comparten únicamente homología con las TEM y las SHV de aproximadamente 25-27%. (55).

Otra betalactamasa de reciente descubrimiento es la VEB-1 la cual muestra una homología genética de aproximadamente 38% con PER-1 y PER-2. Se descubrió en un paciente Vietnamita hospitalizado en Francia. (56). Confiere alta resistencia a la ceftazidima, cefotaxima y aztreonam lo que puede ser revertido por el ácido clavulánico. El gen que codifica esta enzima suele ser mediado por plásmidos; estos plásmidos confieren resistencia a otros antibióticos no betalactámicos.

Otras descritas son la CME-1 descrita en *Chryseobacterium meningosepticum* (57) y TLA-1 identificándose en *E. coli* en un hospital de México (58). Todas estas enzimas confieren resistencia a las oximiinocefalosporinas principalmente ceftazidima y aztreonam.

En Brasil se aisló en *S. marcescens* una BLEE denominada como BES-1 que presenta una CMI de aztreonam de (512 µg/ml) y de cefotaxima (64 µg/ml) mayores que la ceftazidima (8µg/ml). Esta betalactamasa no comparte características con ninguna otra BLEE, tiene resistencia a la inhibición con tazobactam pero no al ácido clavulánico ni sulbactam (51).

2.3 Factores de riesgo para colonización e infección con BLEE

Algunos factores de riesgo asociados a colonización fecal de pacientes ingresados en unidades de alto riesgo han llegado a ser de más del 40%. Los factores de riesgo asociados a esto son los siguientes: proceso de gravedad clínico al ingreso, estado nutricional pobre, úlceras por decúbito, procedimiento invasivos como cateterización arterial, nutrición parenteral, sondaje vesical, sonda nasogástrica, ventilación mecánica y terapia antimicrobiana previa. Todos estos factores relacionados con el tiempo de estancia en la unidad de alto riesgo y la posibilidad de contacto horizontal a través del personal de salud (59, 60, 61, 62, 63).

Es importante mencionar así mismo la relación existente entre la observación de los brotes epidémicos y un amplio consumo de antibióticos, especialmente cefalosporinas de tercera generación. El consumo elevado de los mismos facilitaría la aparición de clones productores de BLEEs, los cuales tienden a diseminar con facilidad entre las unidades con factores predisponentes para la transmisión cruzada. (64).

Habitualmente el tiempo de hospitalización previo a la incubación de un microorganismo productor de BLEE suele ser entre un promedio de 11 y 67 días (3, 59, 65).

Uno de los factores de riesgo de mayor importancia es el uso indiscriminado de antibióticos principalmente cefalosporinas de tercera generación (59, 66, 67). Así mismo se ha asociado al uso de otras clases de antibióticos tales como quinolonas, Trimetoprim con sulfametoxazol, aminoglucósidos y metronidazol (68, 60).

Los asilos y casas de cuidados como orfanatos pueden servir como portal de entrada de microorganismos productores de BLEE hacia el hospital (69). Así mismo en aquellos pacientes en quienes la colonización o la infección sucedió intrahospitalaria podrán transmitir dicho microorganismo a la casa de cuidado o asilo (70). Se ha asociado también al uso de antibioticoterapia indiscriminada en dichos centros, lo que es frecuente. En un estudio reciente se demostró que un 38% de los residentes del asilo estudiado habían consumido antibióticos sistémicos al menos

un mes previo (71). Toman importancia en este contexto los cuidadores de la salud pues se ha demostrado la falta de lavado de manos en quienes manejan a los residentes de estos centros de cuidado, facilitando así la transmisión de dichos microorganismos a través de las secreciones como orina, heces y las secreciones de las úlceras por decúbito (71, 72).

En España se llevó a cabo un estudio de casos y controles en donde se examinaron los factores de riesgo para desarrollar este tipo de infecciones y colonización determinando que son factores de riesgo independiente los siguientes: Diabetes mellitus, uso previo de quinolona, infecciones de vías urinarias recurrentes, admisiones hospitalarias previas y edad avanzada (73).

La detección en el laboratorio de enzimas tipo BLEE es de suma importancia en el laboratorio, debido a que la presencia de esta enzima involucra un cambio de interpretación de algunos de los antibióticos β -lactámicos, sin importar el halo de inhibición o la concentración inhibitoria mínima obtenida. De esta forma, toda cepa BLEE positiva debe ser reportada como resistente a todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam. En el caso de cefoxitina, carbapenemes y combinaciones de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas se deben reportar acorde al resultado del antibiograma (74).

2.4 Métodos fenotípicos de detección de BLEES

Las BLEES son mecanismos de resistencia difíciles de detectar por los laboratorios a nivel intrahospitalario ya que hay diferencias en los perfiles de sustrato de las diferentes BLEES y al efecto inoculo con las pruebas standard de sensibilidad lo que puede traducir falsa sensibilidad a las cefalosporinas (64)

El instituto de estándares laboratoriales y clínicos (CLSI) estableció normas para la detección de enzimas tipo BLEE en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, basados en unos puntos de corte que indican la disminución de sensibilidad a los fármacos habitualmente hidrolizados por estas enzimas estableciendo un método de confirmación basado en el hecho de la inhibición de estas enzimas por ácido clavulánico. Las técnicas fenotípicas de detección emplean un inhibidor de betalactamasas, por lo general es ácido clavulánico el cual inhibe a la BLEE, reduciendo el nivel de resistencia a la cefalosporina. (3)

2.4.1 Métodos de difusión con disco

En este tipo de procedimiento es sencillo, flexible y de bajo costo. Se colocan discos de papel de filtro los cuales contienen cantidad conocida de antibiótico en la superficie de una placa de medio de cultivo previamente inoculada con el microorganismo problema. Son discos de aproximadamente 6mm, se pueden colocar la cantidad que se desee ser analizada. Al entrar en contacto con el medio de cultivo absorbe agua de este e inmediatamente el antibiótico comienza a difundir de forma radial de forma que general un gradiente de concentración la cual es inversamente proporcional a la distancia hasta el borde del disco. En las zonas

donde hay concentración suficiente el microorganismo no podrá crecer, tras un periodo de incubación aparecerá un halo de inhibición de crecimiento alrededor de los discos. El diámetro del halo de inhibición indica el grado de sensibilidad del microorganismo al correspondiente antibiótico. El inconveniente de este método es que no establece la CMI de forma directa. La CLSI estableció punto de corte en milímetros de halos de inhibición, que establece las categorías clínicas de sensible, intermedio y resistente (75).

Suele ser un método confiable para detectar BLEEs, se sugiere que se aumenta la sensibilidad de la prueba al reducir la distancia entre discos a 20 mm. (76) Se ha sugerido también el uso de cefpodoxima en la técnica de doble difusión con disco. La NCCLS recomienda el método de difusión con discos en placas de Mueller-Hinton inoculadas con aislados al 0.5 de Mc Farland, de cefpodoxima (10µg), cefpodoxima mas ácido clavulánico (10/1 µg), ceftazidima (30µg), ceftazidima mas ácido clavulánico (30/10µg), cefotaxima (30µg) y cefotaxima mas ácido clavulánico (30/10µg). Se deberá sospechar de BLEEs cuando se encuentran halos de inhibición para discos de cefpodoxima, ceftazidima o cefotaxima iguales o inferiores a 17, 22 y 27mm respectivamente. La confirmación se hace con la prueba de sinergia necesitando al menos un incremento de 5mm o más del halo de inhibición adicionando los discos con inhibidor de betalactamasa. (75)

2.4.2 Prueba de Épsilon

Este es un método que utiliza tiras de plástico no poroso de 5 cm de largo por 5 mm de ancho las cuales tienen un gradiente de concentraciones de antibiótico. Al colocar la tira a una placa ya inoculada e incubada, la intersección de la elipse de crecimiento del microorganismo con la tira permite una determinación directa de la CMI. Tiene una sensibilidad para confirmar la presencia de BLEES entre 87-100% y una especificidad del 95-100%.

Las tiras diseñadas para organismos productores de BLEE se dividen en dos gradientes: la primera mitad tiene una concentración decreciente de ceftazidima (32µg/ml a 0.5 µ/ml), la segunda mitad tiene ceftazidima en concentraciones decrecientes (4 µg/ml a 0.064 µg/ml) más ácido clavulánico en concentración fija. Es considerada como positiva cuando la sinergia cuando se observa una disminución de tres o más diluciones de la CMI de ceftazidima al añadir ácido clavulánico (77).

2.4.3 Métodos automatizados

Son métodos automatizados comerciales de micro dilución en caldo el cual se integra a sistemas semiautomáticos de incubación, lectura e interpretación de resultados. Se preparan diluciones del antimicrobiano en progresión geométrica en base 2 utilizando un medio de cultivo adecuado, que tras la incubación permite el crecimiento del microorganismo determinando así la concentración que causa inhibición.

Los valores de CMI reales se encontraran en algún valor situado entre la CMI experimentalmente obtenida y la concentración inmediatamente inferior. (78)

En la actualidad se disponen de varios métodos semiautomáticos como Vtek, Microscan, BD- Phoenix System. (79)

2.4.4 Métodos bioquímicos y moleculares para la caracterización de BLEES

Es de suma importancia también la caracterización molecular de las bacterias productoras de beta lactamasas identificando el tipo de forma que si nos anteponeamos a un brote podríamos determinar la relación de la clonalidad entre los distintos aislamientos obtenidos. Estos métodos suelen aplicarse al confirmar la presencia de la BLEE en el aislado correspondiente y sirven para caracterizar dicha enzima.

Se incluyen dentro de los métodos bioquímicos a los siguientes: el isoelectroenfoque, análisis del perfil de substrato, la cinética enzimática y la determinación de los IC 50 para diferentes inhibidores de betalactamasas.

De los métodos moleculares se destacan las sondas de DNA, las técnicas de amplificación y la secuenciación.

3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La presencia de enterobacterias representa un alto porcentaje de desarrollo bacteriano en hemocultivos y urocultivos, reportados en diferentes series aproximadamente 30% y 75% respectivamente. En este nosocomio he observado un incremento en la resistencia a ceftriaxona, cefalosporina de tercera generación que por mucho es uno de los antibióticos más ampliamente utilizados en este hospital, de ahí surge la necesidad de evaluar si este incremento en la resistencia a ceftriaxona es de significancia clínica. El problema es que el demostrar un incremento en la resistencia a ceftriaxona o cualquier otra cefalosporina aunque refleja el mal uso de antibióticos, no responde a que mecanismo de resistencia depende y en que bacterias es más frecuente la resistencia a cefalosporinas. Por ejemplo de nada sirve saber que hay un alto porcentaje de resistencia a ceftriaxona frente a *Pseudomonas aeruginosa* cuando de antemano sabemos que la ceftriaxona no tiene actividad contra este patógeno.

Entonces nos enfrentamos a un incremento en la resistencia a uno de los antibióticos más ampliamente utilizados. Por lo que, basado en los diferentes mecanismos de resistencia, uno de los más importantes de reconocer es la presencia de betalactamasas de espectro extendido. Ya que si se tiene esta betalactamasa de espectro extendido se sabe que hay resistencia a antibióticos betalactámicos, incluyendo, los que contienen el grupo oximino, como las cefalosporinas de amplio espectro, y el aztreonam.

La búsqueda de betalactamasas de espectro extendido es uno de los mecanismos de resistencia antimicrobiana de las enterobacterias, de ahí que buscar su presencia en este grupo que como ya se comentó representa un gran porcentaje de los cultivos aislados, no solo de infecciones nosocomiales sino de las adquiridas en la comunidad, es un reflejo del mal uso de antibióticos, que condiciona a la resistencia a betalactámicos, cefalosporinas y monobactámicos, lo que de acuerdo a diferentes estudios influye negativamente en la evolución de los pacientes, incrementando la morbimortalidad, costo hospitalario, estancias hospitalarias. Y por supuesto es una llamada enérgica de atención para crear e implementar estrategias locales para el adecuado uso de antibióticos.

3.1 Pregunta de investigación

¿Existe diferencia estadísticamente significativa en la presencia de enterobacterias betalactamasa de espectro extendido en hemocultivos y urocultivos tomados durante el 2012, 2013 y 2014 en Hospital Central Norte de PEMEX?

4.- JUSTIFICACIÓN

Científica: El éxito en la terapéutica antimicrobiana ante cualquier infección, más allá de conocer las guías internacionales para el uso de antibióticos, guías norteamericanas o incluso las guías de práctica clínica mexicanas, radica en el conocimiento del patrón de resistencia local, ya que es bien conocido que este patrón cambia de nosocomio a nosocomio, de ahí que es imperioso contar con un estudio, objetivo, científico y que sea metodológicamente correcto para la evaluación del comportamiento en el patrón de resistencia bacteriana.

El incremento en el porcentaje de enterobacterias betalactamasa de espectro extendido (BLEE) es un reflejo del uso inadecuado de antibióticos, de ahí que conocer objetivamente y determinar si es estadísticamente significativo el incremento, sugiere que existe un uso inadecuado de antibióticos, por lo que sienta las bases para proponer estrategias para reducir la resistencia antimicrobiana.

Económica: El adecuado uso de antibióticos a nivel nosocomial, impacta de manera positiva en la mejoría del paciente y por tanto en la reducción en las estancias prolongadas y aunque no es el objetivo de este estudio, medir la disminución en los costos por hospitalización es de esperarse que la reducción en la estancia prolongada disminuya finalmente los costos hospitalarios.

Académica: Obtener el grado de especialista en Medicina Interna.

5.- HIPOTESIS

H1.- Existe un incremento estadísticamente significativo en la presencia de enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido en hemocultivo y urocultivo tomados durante el 2012, 2013 y 2014 en Hospital Central Norte de PEMEX

Ho.- No existe un incremento estadísticamente significativo en la presencia de enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido en hemocultivo y urocultivo tomados durante el 2012, 2013 y 2014 en Hospital Central Norte de PEMEX

6.- OBJETIVOS

Objetivo principal:

Comparar la presencia en urocultivo y hemocultivo de enterobacterias betalactamasa de espectro extendido (BLEE), en los años 2012, 2013 y 2014, en el hospital central norte de PEMEX, para determinar si hay un incremento estadísticamente significativo durante los años previamente citados.

Objetivos específicos:

Identificar las 3 enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido (BLEE) más frecuentemente aisladas.

Analizar la distribución de enterobacterias BLEE por origen de cultivo.

7.- MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Diseño:

Observacional analítico, Trasversal, Retrospectivo.

7.2 Operacionalización de variables:

| VARIABLE | NIVEL DE MEDICIÓN | DEFINICIÓN OPERACIONAL | DEFINICIÓN TEORICA | INDICADOR |
|-------------------------------------|---------------------|--|---|--|
| Enterobacterias | Cualitativa nominal | Desarrollo de enterobacterias en urocultivo o hemocultivo | Bacterias que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae.- bacilos Gram negativos, por lo general de 1-3 µm de largo y 0,5 µm de diámetro. Características típicas y distintivas de las enterobacterias Son anaerobios facultativos Reducen los nitratos a nitritos (con algunas excepciones) No licuan el alginato Fermentan la glucosa a ácido con producción de gas o sin ella Son oxidasa-negativos, a excepción de Plesiomonas Producen catalasa La mayoría son móviles (con flagelos peritricos) No formadores de esporas | Genero: Escherichia Klebsiella Enterobacter Serratia Citrobacter Yersinia Proteus Morganella |
| Betalactamasa de espectro extendido | Cualitativa nominal | Reporte de urocultivo o hemocultivo con la presencia de BLEE en antibiogramas. | Enzimas capaces de hidrolizar las penicilinas, todas las cefalosporinas (menos las cefamicinas) y las monobactamas, pero no las carbapenemas | 1.- Si 2.- No |

7.3 Universo de trabajo y muestra:

El universo de este estudio se conformó por las enterobacterias reportadas en hemocultivos y urocultivos en el Hospital Central Norte de Petróleos Mexicanos durante los años 2012, 2013 y 2014.

El universo fue de 4134 Urocultivos y 124 hemocultivos.

Muestra:

Se trabajó con una muestra representativa, probabilística.

Se revisaron un total de 1019 cultivos, los cuales se separaron por sitio de cultivo y año.

7.4 Instrumento de investigación

Se utilizó una cedula como herramienta de recolección de datos, empleando Excel 2013 de Microsoft Office. Donde se recabaron los cultivos por ficha, codificación, empresa, nombre, fecha de toma, clave de estudio, desarrollo (enterobacteria reportada) y la presencia de betalactamasa de espectro extendido o su ausencia codificada con 1 o 2 respectivamente y según corresponda, en hojas por separado para hemocultivo y urocultivo (Anexo 1 y 2).

Se define como herramienta de recolección de datos a cualquier recurso de que pueda valerse el investigador para acercarse a los fenómenos y extraer de ellos información relevante para su investigación. Habitualmente el instrumento sintetiza en si toda la labor previa de la investigación, resume los aportes del marco teórico al hacer una selección de datos que corresponde a los indicadores, y por lo tanto a las variables.

Criterios de inclusión:

Se incluyen los urocultivos y hemocultivos reportados en los años 2012, 2013 y 2014 con desarrollo de enterobacterias.

Criterios de exclusión:

Cultivos con desarrollo polibacteriano.

Cultivos reportados como contaminados.

Cultivos en los que no se reporte antibiograma.

7.5 Desarrollo del proyecto

Posterior a la recolección de los datos bajo los criterios de inclusión y exclusión determinando de esta forma nuestro universo y la muestra a analizar.

Las muestras adquiridas por hemocultivo y urocultivo fueron procesadas en el laboratorio de microbiología, bajo apego a los estándares de Comité Nacional de Normas de Laboratorios Clínicos (NCCLS). Posteriormente al inocular las secreciones e incubarlas se procede a la lectura a través de los paneles de MicroScan ® los cuales fueron diseñados para la determinación de la sensibilidad de antimicrobianos y/o la identificación en el nivel de especie de bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios.

Para la identificación de los bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores se realizan pruebas convencionales y cromogénicas. La identificación se basa en la detección de cambios de pH, la utilización del sustrato y el crecimiento en presencia de antimicrobianos después de 16 a 42 horas de incubación a 35°C. Los paneles que contienen ceftazidima, aztreonam, cefotaxima o ceftriaxona a 1µg/ml o cefpodoxima a 1 o 4 µg/ml pueden utilizarse para detectar la presencia de cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* o *Klebsiella pneumoniae* con sospecha de que producen betalactamasas de espectro extendido. En el caso de las cepas por *Proteus Mirabilis* solo deberán utilizarse paneles con ceftazidima, cefotaxima y cefpodoxima. Para la confirmación de presencia de BLEEs deberán utilizarse los que contienen Ceftazidima/ácido clavulánico o cefotaxima/ ácido clavulánico. La prueba se considerara como positiva cuando se observa una disminución superior o igual a 3 diluciones dobles progresivas en la CIM de los microorganismos sospechosos frente a la ceftazidima o cefotaxima en presencia de una concentración fija de ácido clavulánico frente a la CIM obtenida cuando los antimicrobianos son probados por si solos.

Se realizó el procesamiento y el análisis estadístico de los datos con el apoyo de Excel y R (software estadístico). Así mismo se llevó a cabo la redacción de la tesis durante el último periodo con apoyo de Microsoft Word recabando la bibliografía a través de Google, Clinical key, Science direct y Pub Med.

7.6 Límite de tiempo y espacio

La preparación de esta tesis se llevó a cabo en las instalaciones del Hospital Central Norte de Pemex utilizando para la obtención de los datos el SIAH (sistema integral de administración hospitalaria).

Se revisaron todos los urocultivos y hemocultivos reportados en el periodo que comprende 1° de Enero del 2012 al 31 de Diciembre del 2014.

7.7 Cronograma

FECHA DE INICIO 1. ° De Mayo de 2015
Julio 2015

FECHA DE TÉRMINO

| | Periodo en.- Meses | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|--------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Ejecución | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Análisis | | x | x | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Preparación de la | | | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

8.- IMPLICACIONES ÉTICAS

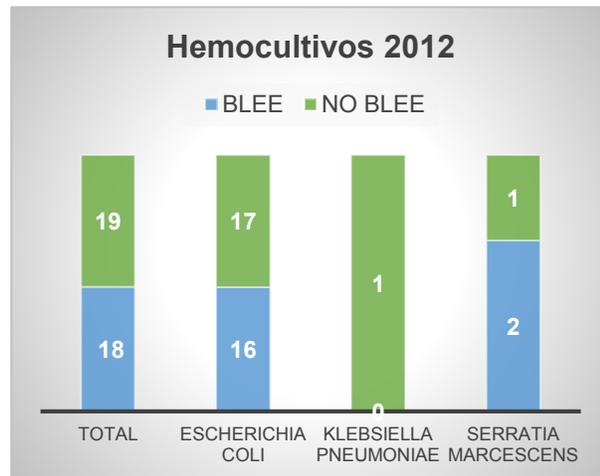
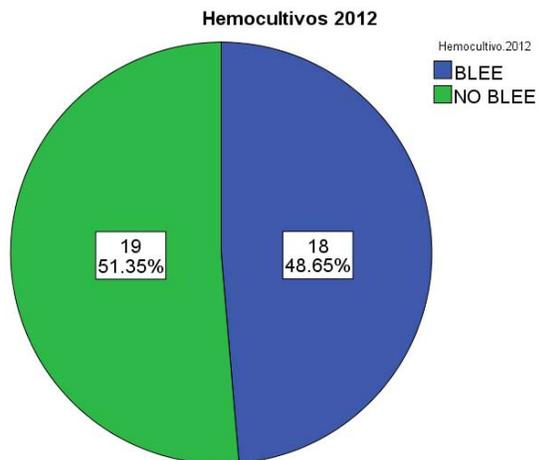
Esta tesis es un estudio sin conflicto de interés y de no intervención. Se llevó a cabo bajo los principios básicos de la declaración de Helsinki la cual fue promulgada por la Asociación Médica Mundial (AMM) como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables.

9.- RESULTADOS

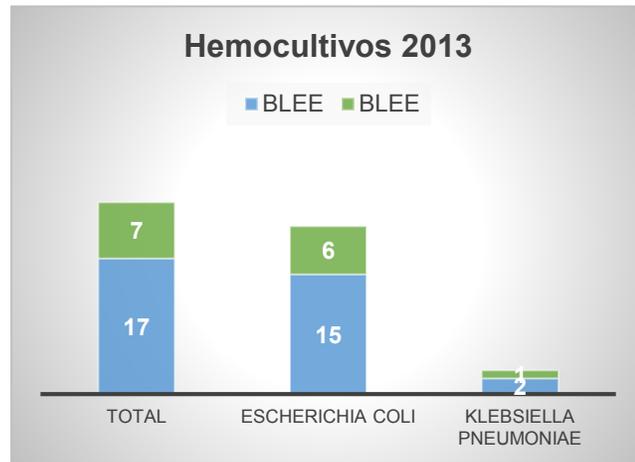
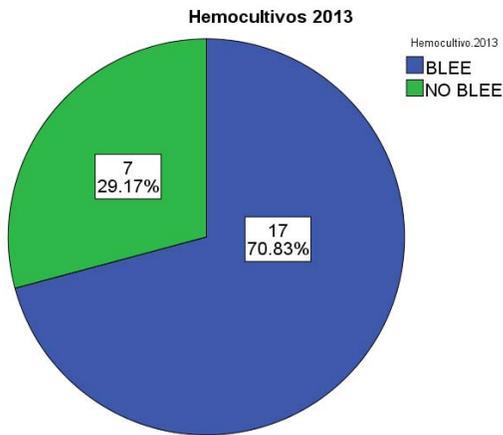
Se revisaron 1019 cultivos.- 120 corresponden a hemocultivos y 899 a urocultivos:

Hemocultivos.-

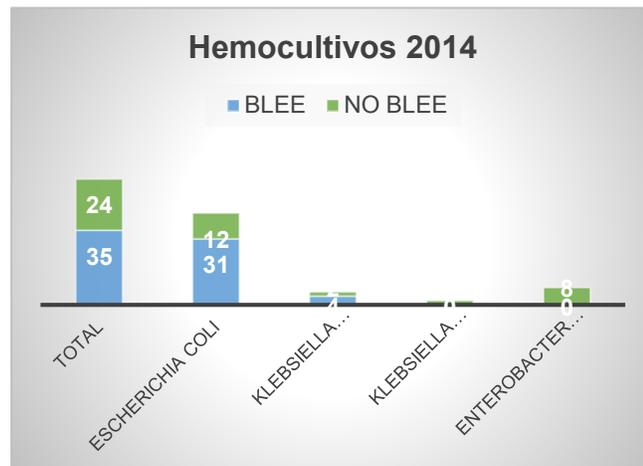
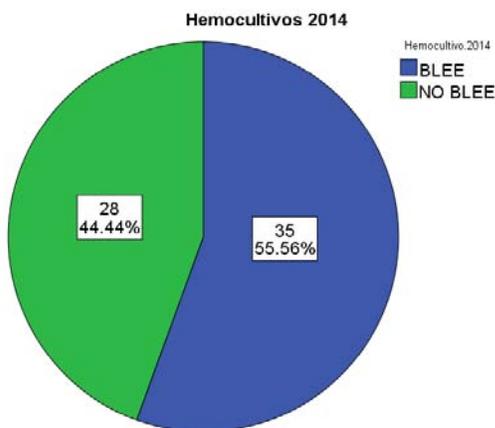
En el 2012, son 37, de estos 18 (48.65%), fueron BLEE [16 (88%) *Escherichia coli* y 2 (12%) *Serratia marcescens*] y 19 (51.35%) NO BLEE [17 (90%) *Escherichia coli*, 1 (5%) *Klebsiella pneumoniae* y 1(5%) *Serratia marcescens*];



En el 2013, son 24, de estos 17 (70.83%) fueron BLEE [15 (88%) *Escherichia coli* y 2 (12%) *Klebsiella pneumoniae*] y 7 (29.17%) NO BLEE [6 (86%) *Escherichia coli* y 1 (6%) *Klebsiella pneumoniae*];

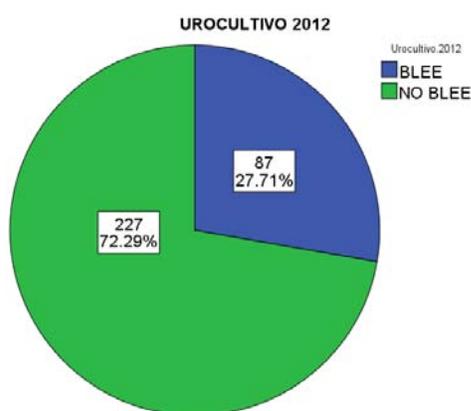


En el 2014, son 59, de estos 35 (59.32%) fueron BLEE [31 (88%) *Escherichia coli* y 4 (12%) *Klebsiella pneumoniae*] y 24 (40.68%) NO BLEE [12 (50%) *Escherichia coli* y 2 (8%) *Klebsiella pneumoniae*, 2 (8%) *Klebsiella oxytoca* y 8 (34%) *Enterobacter cloacae*].

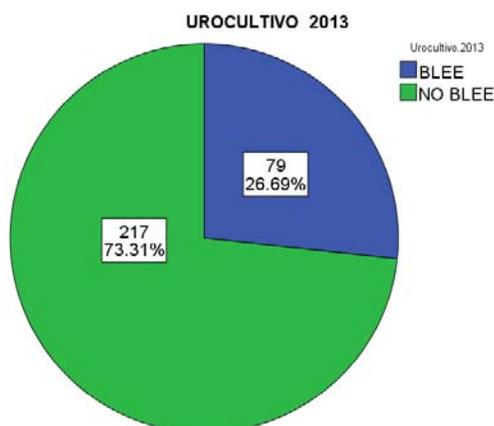


Urocultivos.-

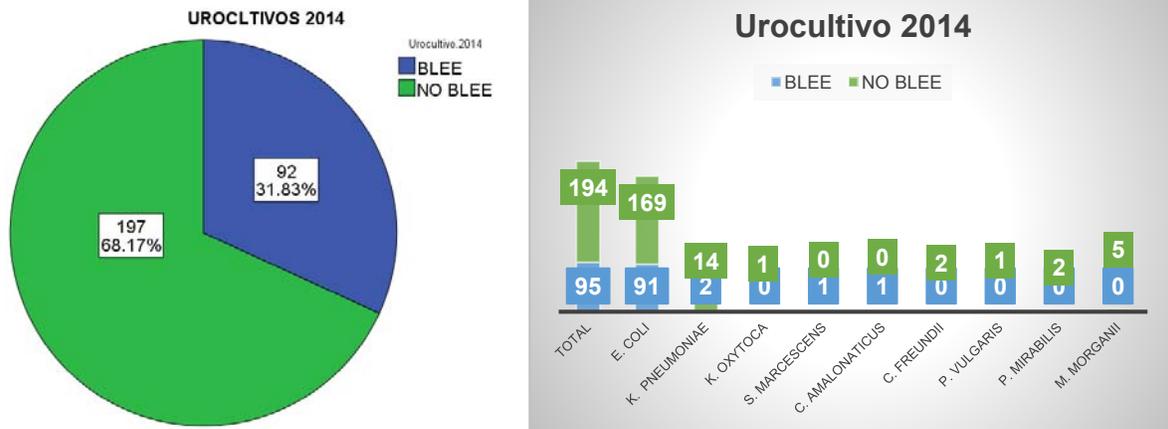
En el 2012, son 314, de estos 87 (27.71%), fueron BLEE [80 (92%) *Escherichia coli*, 2 (2.3%) *Klebsiella pneumoniae*, 1 (1.15%) *Klebsiella oxytoca*, 1 (1.15%) *Serratia marcescens*, 1 (1.15%) *Citrobacter freundii*, 1 (1.15%) *Proteus mirabilis*, 1 (1.15%) *Morganella morganii*] y 227 (72.29%) NO BLEE [194 (85%) *Escherichia coli*, 15 (6%) *Klebsiella pneumoniae*, 1 (0.4%) *Klebsiella oxytoca*, 3 (1.4%) *Serratia marcescens*, 3 (1.4%) *Citrobacter freundii*, 8 (3.5%) *Proteus mirabilis*, 2 (0.8%) *Morganella morganii* y 1 (0.4%) *Yersinia enterocolitica*];



En el 2013, son 296, de estos 79 (26.69%) fueron BLEE [75 (95%) *Escherichia coli* y 2 (2.5%) *Klebsiella pneumoniae* y 2 (2.5%) *Proteus mirabilis*] y 217 (73.31%) NO BLEE [185 (85%) *Escherichia coli*, 9 (4%) *Klebsiella pneumoniae*, 1(0.5%) *Klebsiella ozaenae*, 3 (1.5%) *Klebsiella oxytoca*, 1 (0.5%) *Klebsiella ornithinolytica*, 2 (1%) *Serratia marcescens*, 1 (0.5%) *Citrobacter koseri*, 2 (1%) *Citrobacter freundii*, 3 (1.5%) *Proteus vulgaris*, 6 (2.7%) *Proteus mirabilis*, 1 (0.5%) *Morganella morganii* y 3 (1.5%) *Yersinia enterocolitica*];



En el 2014, son 289, de estos 95 (32.87%) fueron BLEE [91 (96%) *Escherichia coli*, 2 (2%) *Klebsiella pneumoniae*, 1 (1%) *Serratia marcescens*, 1 (1%) *Citrobacter amalonaticus*] y 194 (67.13%) NO BLEE [169 (87%) *Escherichia coli*, 14 (7.2%) *Klebsiella pneumoniae*, 1 (0.5%) *Klebsiella oxytoca*, 2 (1%) *Citrobacter freundii*, 1(0.5%) *Proteus vulgaris*, 2 (1%) *Proteus mirabilis*, y 5 (2.5%) *Morganella morganii*].



9.1 Análisis estadístico

Se compararon variables categóricas mediante R (software estadístico), utilizando Chi-cuadrado de Pearson con corrección de continuidad de Yates, estableciendo una p significativa si es <0.05. Obteniendo para hemocultivos una p= 0.1273 (X-squared = 2.3246, df = 1, p-value = 0.1273); y para los urocultivos una p = 0.2366 (X-squared = 1.4008, df = 1, p-value = 0.2366). No siendo significativo en ninguno de los casos.

10.- DISCUSIÓN

Como ya se comentó, de acuerdo con la organización mundial de la salud, la resistencia antimicrobiana constituye en la actualidad un problema de salud pública que nos afecta globalmente, por lo que es imperioso establecer estrategias de contención, para evitar tanto la diseminación de enterobacterias multirresistentes como generar nuevas resistencias.

En este estudio se encontró un porcentaje de enterobacterias productoras BLEE en hemocultivos de 48.65%, 70.83% y 59.32% para los años 2012, 2013 y 2014 respectivamente, y aunque no hubo un incremento estadísticamente significativo en el comportamiento a través de los años ($p= 0.1273$) el porcentaje contrasta radicalmente con el 5-8% en Corea, Japón, Malasia y Singapur, e incluso es superior a las series reportados en países de América Latina del 30 a 60% en Brasil, Colombia y Venezuela (3).

En cuanto a los urocultivos se reporta en este estudio enterobacterias productoras de BLEE de 27.71%, 26.69% y 32.87% en los años 2012, 2013 y 2014 respectivamente, con un aparente incremento, sin embargo no resultó con significancia estadística ($p=0.2366$). La literatura es bastante variable en cuanto al porcentaje de desarrollo de enterobacterias BLEE tomadas de urocultivo, oscilando del 8% hasta 30%.

En la distribución de frecuencias, el germen más frecuentemente aislado para hemocultivos fue *Escherichia coli* donde el 88% de las enterobacterias productoras de BLEE corresponde con este patógeno. En contraste con gran parte de la literatura donde *Klebsiella pneumoniae* es el patógeno productor de BLEE más frecuentemente aislados en hemocultivos. En el estudio SENTRY se reporta a América Latina, con uno de los porcentajes más altos de desarrollo de *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE siendo de hasta el 45%. En comparación a esto, mi estudio no reportó desarrollo de *Klebsiella* BLEE en el 2012, mientras que en el 2013 y 2014 se encontró en el 12% de las enterobacterias productoras de BLEE. El tercer patógeno reportado en hemocultivos con producción de BLEE fue *Serratia marcescens* representando el 12% en ese año, en 2013 y 2014, solo hubo de desarrollo de *Escherichia coli* y *Klebsiella*.

En cuanto a los urocultivos, hubo concordancia con la literatura general ya que *Escherichia coli* continua siendo el principal patógeno causante de infección de vías urinarias, por lo que no sorprende que de las 87 BLEE encontradas (27.71%), 80 (92%) corresponden a *Escherichia coli*. En cuanto al porcentaje de BLEE concuerda con otros estudios donde se encontró en 29.5%(8). El segundo patógeno más frecuentemente encontrado en urocultivos fue *Klebsiella pneumoniae* la cual en agrupación con otras especies de *Klebsiella* representan 4.6% para el año 2012, para el 2013 hubo desarrollo de *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* en el 2.5 % para ambos casos. Y en el 2014 *Klebsiella pneumoniae* representa el 2% de los

casos mientras que *Serratia marcescens* y *Citrobacter amalonaticus* ocupan el tercer lugar de frecuencia ambas con un 1%.

En comparación con la literatura mexicana en el hospital civil de Guadalajara se reporta a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE en el 16.3% y 26.9% respectivamente. Mientras que en el hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” en Monterrey 35.9% de *Klebsiella pneumoniae*, 35.6 % de *Enterobacter cloacae*, 30 % de *Escherichia coli* y 20.5 % de *Serratia marcescens* resultaron productoras de betalactamasa de espectro extendido (9, 10).

11.- CONCLUSIÓN

Pese a la percepción subjetiva que observe en el incremento de betalactamasas de espectro extendido en el Hospital Central Norte de PEMEX y tras apegarse al método científico, no hubo significancia estadística para ninguno de los casos ni para hemocultivos ni para urocultivos en su incremento a través de los años. Por lo que se rechaza la hipótesis alterna y se acepta la hipótesis nula. Sin embargo se deja en evidencia un alto porcentaje de desarrollo de BLEE en hemocultivos el cual es alarmante ya que se reportó hasta el 70.83% en uno de los años.

Es importante recalcar que el antecedente más importante reconocido para el desarrollo de betalactamasas de espectro extendido es el uso previo de cefalosporinas de tercera generación, recordando que en nuestro medio hospitalario es uno de los antibióticos mayormente utilizados, lo que quiere decir, que en base a estos resultados y bajo un supuesto, que al menos en el año 2013 de 100 pacientes que cursaran con bacteriemia secundaria a una enterobacteria y 70 de estos recibieran tratamiento a base de ceftriaxona, no les sería efectivo, eso sin considerar que existen otros mecanismos que confieren resistencia a cefalosporinas como el ampC que no fueron medidos en este estudio. Por lo que es importante ser consciente de la frecuencia tan alta de resistencia a cefalosporinas al momento de prescribir antimicrobianos. Y continuar con estricto apego al comité de uso de antimicrobianos.

Es necesario contar con más estudios en este hospital para establecer la frecuencia de enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido, realizar además caracterización molecular ya que esto aporta información valiosa para el control de brotes o contrarrestar su frecuencia de por sí elevada. Por ejemplo al hacer caracterización molecular se puede identificar si se trata de un clon de la misma bacteria y de ser así, es probable que el problema esté en la sanitación de las áreas críticas, por colonización del lugar o la transferencia de paciente a paciente, como principal vector el personal de salud.

Por lo que aun y cuando no hay un incremento con significancia estadística a través de los años medidos, la cantidad de enterobacterias productoras de BLEE es alta tanto para hemocultivos como para urocultivos, por lo que hay que reconsiderar las medidas para la contención de este problema de salud, así como su constante reevaluación.

11.1 Recomendaciones

Las recomendaciones generales son de capital importancia y ya son ampliamente difundidas en el hospital, como el lavado de manos en todo el personal en contacto con los pacientes y en los momentos indicados por la secretaria de salud y la organización mundial de la salud.

La selección de antibióticos en base a las frecuencias de los principales patógenos causales y su patrón de resistencia en este nosocomio debe de conocerse y ser ampliamente difundidas en todos los sectores donde se prescriban antimicrobianos. Así mismo es necesario continuar generando información acerca de dichos patrones de resistencia.

Otra recomendación es el desescalamiento antimicrobiano o ajuste de terapia en cuanto se cuente con resultados de cultivos, optando por el antimicrobiano de menor espectro que muestre sensibilidad y no por el de mayor espectro aun cuando también muestre sensibilidad.

Sugiero que el comité de antimicrobianos considere la restricción de cefalosporinas de tercera generación o se realicen estudios prospectivos para evaluar el impacto real de la restricción de cefalosporinas ya que Rahel et al (80) encontró que una reducción del 80 % en el uso de cefalosporina en todo el hospital durante un período de 2 años resultó en una reducción del 44 % de *Klebsiella* resistente a ceftazidima en el hospital y una reducción del 88 % en la unidad de cuidados intensivos quirúrgicos. Sin embargo en otro estudio en 2004 Elisabeth Meyer et al. (81) Utilizaron piperacilina tazobactam como terapia estándar en peritonitis, para favorecer la reducción de cefalosporinas de tercera generación durante 30 meses, sin encontrar impacto positivo en la situación de la resistencia en la unidad de cuidados intensivos, pero si sugieren una presión de resistencia selectiva por el uso de piperacilina tazobactam. Por lo que es necesario continuar con estudios.

12.- ORGANIZACIÓN

Autor: Isaac Morones Esquivel

Dr. José Oscar Terán González
Director de Tesis

Dra. Sheila Vázquez Arteaga
Asesor de Tesis

Dr. Emilio Abraham Reyes Jiménez
Asesor de Tesis

Dr. Javier Castro De Franchis
Asesor de Tesis

Vo.Bo
Dr. Carlos Araiza Casillas
Director del Hospital Central Norte Petróleos Mexicanos

Dra. Guadalupe Griselda Muzquiz Barrera
Jefa de Enseñanza e Investigación del Hospital Central Norte de Petróleos
Mexicanos

13.- BIBLIOGRAFÍA

1. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. World health organization junio 2014.
2. GARZA-GONZÁLEZ E.; MENDOZA-IBARRA S.; LLACA-DÍAZ J. 2011. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum b-lactamase-producing enterobacteriaceae isolates at a tertiary care centre in monterrey, México. *Journal of medical microbiology* 60, 84–90.
3. PATERSON D.L.; BONOMO RA. 2005. Extended spectrum b- lactamases: a clinical update. *Clin microbiol rev* 18:657-686.
4. MORFÍN-OTERO R.; RODRÍGUEZ-NORIEGA. 1999. Enterobacterias con betalactamasas de espectro extendido: su importancia como patógenos nosocomiales. *Enf infec y microbiol*19(3):116-132.
5. OTEO J.; PEREZ-VAZQUEZ M.; CAMPOS J. 2010. Extended-spectrum [beta]-lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact *Curr. Opin. Infect. Dis.* 23, 320–326.
6. REINERT R.R.; LOW D.E.; ROSSI X. F. 2007. Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline J. *Antimicrob. Chemother.*, 60 1018–1029.
7. PITOUT J. D.D.; LAUPLAND K.B.2008. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 8: 159–66.
8. OCAÑA CARRIZO, A. V.; ROCCHI, M.; GASPAROTTO, A.; ET AL. 2007. Bacteriemia por enterobacterias en adultos en un hospital universitario: análisis de cinco años. *Revista Argentina de Microbiología* 39: 38-43.
9. MURO S.; GARZA-GONZÁLEZ E.; CAMACHO-ORTIZ A.; ET AL. 2012 Risk factors associated with extended-spectrum b-lactamase-producing enterobacteriaceae nosocomial bloodstream infections in a tertiary care hospital: a clinical and molecular analysis. *Chemotherapy* 58:217–224.
10. MORFÍN-OTERO R.; MENDOZA-OLAZARAN S.; SILVA-SÁNCHEZ J.; ET AL. 2013. Characterization of Enterobacteriaceae Isolates Obtained from a Tertiary Care Hospital in Mexico, Which Produces Extended-Spectrum b-Lactamase. *microbial drug resistance* 19(5): 378-383.
11. PUERTA-GARCÍA A.; MATEOS-RODRÍGUEZ F. 2010. Enterobacterias. *Medicine.* 10(51): 3426-31.
12. MANDELL, G.L.; BENNET J.E.; ET AL. 2010 Principles and Practice of Infectious Diseases 7ma Edicion. Philadelphia, Churchill livingstone elsevier. Vol 2. ISBN: 978-0-4430-6839-3.
13. PUPO GM, KARAOLIS DKR, LAN RT, ET AL. 1997. Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and *mdh* sequence studies. *Infect Immun.* 65:26 85-92.
14. BLATTNER FR.; PLUNKETT G III.; BLOCH CA, ET AL.1997. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science.* 277:14 53-62.

15. NIKAIDO H. 1996. Outer membrane. In: Neidhardt FC, editor. *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*. Washington, DC: ASM Press. 29:47.
16. RAETZ CRH. 1996. Bacterial lipopolysaccharides: a remarkable family of bioactive macroamphiphiles. In: Neidhardt FC, editor. *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*. Washington, DC: ASM Press. 1035:63.
17. ØRSKOV F, ØRSKOV I. 1992. *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals. *Can J Microbiol*. 38:699-674.
18. HAYASHI F.; SMITH KD.; OZINSKY A, ET AL. 2001. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature*. 410:1099-1103.
19. MERZ AJ.; SO M.; SHEETZ MP. 2000. Pilus retraction powers bacterial twitching motility. *Nature*. 407:98-102.
20. FALKOW S. 2004. Molecular Koch's postulates applied to bacterial pathogenicity — a personal recollection 15 years later. *Nature reviews microbiology* 2: 67-72.
21. CORNELIS GR. 2006 The type III secretion injectisome. *Nat Rev Microbiol*. 4:811-25.
22. MORAES T.F.; SPRETER T.; STRYNADKA N. CJ. 2008. Piecing together the Type III injectisome of bacterial pathogens. *Current Opinion in Structural Biology*. 18:258–266.
23. MARLOVITS T.C.; STEBBINS C.E. 2010. Type III secretion systems shape up as they ship out. *Current Opinion in Microbiology*. 13:47–52.
24. BUCKLES EL.; WANG X.; LANE MC.; ET AL. 2009. The role of K2 capsule in *Escherichia coli* urinary tract infection and serum resistance. *J Infect Dis*. 199.
25. CAJAS-BRAVO J.M.; COBOS ARGUDO J.G.; 2015. Prevalencia de Enterobacterias Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) provenientes de urocultivos de pacientes ambulatorios y hospitalizados del Hospital José Carrasco Artega. Tesis previa a la obtención del Título de Bioquímico Farmacéutico.
26. BUSH K.; JACOBY G.A.; MEDEIROS A.A. 1995. A Functional Classification Scheme for b-Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure antimicrobial agents and chemotherapy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, p.1211–1233.
27. HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ E. 2010. *Escherichia coli* productores de blee aislados de urocultivo: implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria. Tesis doctoral.
28. R. CANTÓN A.; NOVAIS A.; VALVERDE A.; ET AL. 2008. Prevalence and spread of extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, CMI*, 14 (Suppl. 1), 144–153.
29. JIMÉNEZ A.; TIJERINO A.; VARGAS J.L. 2011. Mecanismos de resistencia a los antibióticos de importancia clínica en enterobacterias. WHO-GFN, Centroamérica y Caribe de habla hispana II Curso Avanzado WHO-Global Foodborne Infections Network (GFN).

30. ABRAHAM EP.; CHAIN E. 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature* 144:837.
31. PUJOL M.; PEÑA C. 2003. El significado clínico de las betalactamasas de espectro extendido. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 21(2):69-71.
32. KNOTHE, H.; SHAH P.; ET AL. 1983. Transferable resistance to cefotaxime, coxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* and *Serratia Marcescens*. *Infection* 11 (6): 315-7.
33. DATTA, N.; KONTOMICHALOU P. 1965. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* 208:239-241.
34. DU BOIS SK.; MARRIOTT MS.; AMYES SGB. 1995. TEM and SHV derived extended-spectrum β -lactamases: relationship between selection, structure and function. *J. Antimicrob. Chemother.* 35:7-22.
35. DUMARCHE P.; CHAMPS C.; SIROT D.; ET AL. 2002. TEM derivative producing Enterobacter aerogenes strains: dissemination of a prevalent clone. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 1128-1131.
36. PERILLI M.; SEGATORE B.; MASSIS MRD.; ET AL. 2000. TEM-72 a new extended-spectrum betalactamase detected in *Proteus mirabilis* and *Morganella morganii* in Italy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 2537-2539.
37. MARCHANDIN H.; CARRIERE C.; SIROT D.; ET AL 1999. TEM-24 produced by four different species of Enterobacteriaceae including *Providencia rettgeri* in a single patient. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 2069-2073.
38. MOROSINI ML.; CANTON R.; MARTINEZ-BELTRAN J.; ET AL. 1995. New extended-spectrum TEM-type β -lactamase from *Salmonella entérica* subsp. *Enterica* isolated in a nosocomial outbreak. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 458-461.
39. JACOBY, G. A.; MADEIROS A.A. 1991. More extended-spectrum betalactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35: 1697-1704.
40. SOUGAKOFF, W.; GOUSSARD S.; GERBAUD G.; COURVALIN P. 1988. Plasmid mediated resistance to thirde generation cephalosporins caused by point mutations in TEM-type penicillinase genes. *Rev. Infect. Dis.* 10: 879-884.
41. TZOUVELEKIS LS.; BONOMO RA. 1999. SHV type β -lactamase. *Curr. Pharm. Des.* 5:847-864.
42. HULETSKY A.; COUTURE F.; LEVESQUE RC. 1990. Nucleotide sequence and phylogeny of SHV-2 β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34: 1725-1732.
43. KNOTHE, H.; SHAH P.; KRCMERY V.; ET AL. 1983. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* and *Serratia marcescens*. *Infection* 11:315-317.
44. MIRANDA G.; CASTRO N.; LEAÑOS B. ET AL. 2004. Clonal and Horizontal Dissemination of *Klebsiella pneumoniae* Expressing SHV-5 Extended-

- Spectrum β -Lactamase in a Mexican Pediatric Hospital. *Journal of Clinical Microbiology* 42:1 30-35.
45. BARANIAK, A.; FIETT J.; SULIKOWSKA A.; ET AL. 2002. Ceftazidime-hydrolyzing CTX-M-15 extended-spectrum beta lactamase (ESBL) in Poland. *J. Antimicrob. Chemother.* 50:393-396.
 46. POIREL L.; GNIADKOWSKI M.; NORDMANN P. 2002. Biochemical analysis of the ceftazidime- hydrolyzing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15 and of its structurally related beta-lactamase CTX-M-3. *J. Antimicrob. Chemother.* 50:1031-1034.
 47. TZUOVELEKIS LS.; TZELEPI E.; TASSIOS PT.; ET AL 2000. CTX-M type β -lactamases an emerging group of extended spectrum enzymes. *Int. J. Antimicrob. Agents* 14-137-143.
 48. Labia, R.; 1999. Analysis of the bla (toho) gene coding for Toho-2 beta-lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:2576-2577.
 49. MA, L.; ISHII Y.; ISHIGURO M.; ET AL. 1998. Cloning and sequencing of the gene encoding Toho-2, a class A betalactamase preferentially inhibited by tazobactam. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 1181-1186.
 50. WELDHAGEN, G.; POIREL F.; NORDMANN P. 2003. Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47: 2385-2392.
 51. BONNET R.; SAMPAIO J. L.; LABIA R.; ET AL. 2000. A novel class A extended-spectrum beta-lactamase (BES-1) in *Serratia marcescens* isolated in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:3061-3068.
 52. GIAKKOUPIS, P.; TZOUVELEKIS L. S.; TSAKRIS A.; ET AL. 2000. IBC-1, a novel integrin-associated class A beta-lactamase with extended-spectrum properties produced by an enterobacter cloacae clinical strain. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44-2247-2253.
 53. NORDMANN P.; RONCO E.; NASS T.; ET AL. 1993. Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 962-969.
 54. NEUHAUSER, M. M.; WEINSTEIN R. A.; RYDMAN R.; ET AL. 2003. Antibiotic resistance among gram-negative bacilli in US intensive care units: implications for fluoroquinolone use. *JAMA* 289:885-888.
 55. BAUERNFEIND A.; STEPLINGER I.; JUNGWIRTH R.; ET AL. 1996. Characterization of β -lactamase gene bla PER-2 which encodes an extended-spectrum class A β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40:616-620.
 56. POIREL, L.; NAAS T.; GUIBERT M.; ET AL. 1999. Molecular and biochemical characterization of VEB-1, a novel class A extended-spectrum beta-

- lactamase encoded by an *Escherichia coli* integrin gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:573-581.
57. ROSSOLINI GM.; FRANCESCHINI N.; LAURETTI L.; ET AL. 1999. Cloning of a *Chryseobacterium* (*Flavobacterium*) *meningosepticum* chromosomal gene (*bla* CME) encoding an extended-spectrum class A β -lactamase related to the *Bacteroides cephalosporinases* and the VEB-1 and PER β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:2193-2199.
 58. SILVA J.; AGUILAR C.; AYALA G.; ET AL. 2000. TLA-1: a new plasmid mediated extended-spectrum β -lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:997-1003.
 59. ASENSIO A.; OLIVER A.; GONZALEZ- DIEGO P.; ET AL. 2000. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as a risk factor for colonization and infection. *Clin. Infect. Dis.* 30:55-60 (9).
 60. WIENER J.; QUINN J.P.; BRADFORD P.A.; ET AL. 1999. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *JAMA* 281:517-523.
 61. LUCET J.C.; CHEVRET S.; DECRE D.; ET AL. 1996. Outbreak of Multiply resistant enterobacteriaceae in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin. Infect. Dis.* 22:430-436.
 62. PENA C.; PUJOL M.; RICART A.; ET AL. 1997. Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. *J. Hosp. Infect.* 35:9-16.
 63. MANGENEY N.; NIEL P.; PAUL G.; ET AL. 2005. A 5-year epidemiological study of extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a medium-and long-stay neurological unit. *J. Appl. Microbiol.* 88:504-511.
 64. PATERSON DL, YU VL 1999. Extended-spectrum β -lactamases: A call for improved detection and control. *Clin. Infect. Dis.* 29:1419-1422.
 65. BISSON G.; FISHMAN N. O.; PATEL J. B.; ET AL. 2002. Extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 23:254-260.
 66. DU B.; LONG Y.; LIU H.; ET AL. 2002. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome. *Intensive Care Med.* 28: 1718-1723.
 67. EVEILLARD M.; SCHMIT J.L.; EB F. 2002. Antimicrobial use prior to the acquisition of multiresistant bacteria. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 23:155-158.
 68. LAUTENBACH E.; PATEL J. B.; BILKER W. B.; ET AL. 2001. Extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella*

- pneumonia: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. Clin. Infect. Dis. 32:1162-1171 (4).
69. BRADFORD P.A.; URBAN C.; JAISWAL A.; ET AL. 1995. SHV-7, a novel cefotaxime-hydrolyzing beta-lactamase, identified in *Escherichia coli* isolates from hospitalized nursing home patients. Antimicrob. Agents Chemother. 39:899-905.
 70. BIRD J.; BROWNING R.; HOBSON R.P.; ET AL. 1998. Multiply-resistant *Klebsiella pneumoniae*: failure of spread in community-based elderly care facilities. J. Hosp. Infect. 40:243-247.
 71. SMITH P.W.; SEIP C.W.; SCHAEFER S.C.; ET AL. 2000. Microbiologic survey of long-term care facilities. Am. J. Infect. Control. 28:8-13.
 72. DENMAN S.J.; BURTON J.R. 1992. Fluid intake and urinary tract infection in the elderly. JAMA 267:2245-2249.
 73. RODRIGUEZ-BANO J.; NAVARRO M.D.; ROMERO L.; ET AL. 2004. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. J. Clin. Microbiol. 42:1089-1094.
 74. HELIO S.; MARIANA C.; RODRIGO E.; ET AL. 2004. Dissemination and diversity of metallo β -lactamases in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial Surveillance Program. Int. Journal. Antimicrob. Agents 25:57-61.
 75. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 15th informational supplement (M100-S15). National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
 76. TZELEPI E.; GIAKKOUPIS P.; SOFIANOU D.; ET AL. 2000. Detection of extended spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. J. Clin. Microbiol. 38:542-546.
 77. BROWN D.F.; ANDREWS J.; KING A.; ET AL. 2000. Detection of extended-spectrum beta-lactamases with E-test and double-disc potentiation methods. J. Antimicrob. Chemother. 46:327-328.
 78. Centers for Disease Control. 2000. Laboratory capacity to detect antimicrobial resistance. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 48:1167-1171.
 79. TZOUVELEKIS L. S.; VATOPOULOS A. C.; KATANIS G.; ET AL. 1999. Rare case of failure by an automated system to detect extended-spectrum beta-lactamase in a cephalosporin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolate. J. Clin. Microbiol. 37:2388.
 80. RAHAL J.J.; URBAN C.; HORN D.; 1998. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *Klebsiella*. JAMA 280:1233-1237.

81. MEYER E.; LAPATSCHEK M.; BECHTOLD A.; ET AL. 2009. Impact of restriction of third generation cephalosporins on the burden of third generation cephalosporin resistant *K. pneumoniae* and *E. coli* in an ICU. *Intensive Care Med* 35:862–870.

14. ANEXOS

Anexo 1

| FICHA | CODI EMP | PACIENTE | FECHA TOMA | CVE_ESTUDIO | RESULTADO | BLEE |
|--------|----------|------------------------------------|------------|-------------|-----------------------|------|
| 180603 | 0 | 0 FRANCISCO SANCHEZ ARREDONDO | 01/01/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 1 |
| 180603 | 0 | 0 FRANCISCO SANCHEZ ARREDONDO | 01/01/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 1 |
| 141210 | 0 | 0 JOSE LUIS GONZALEZ RUIZ | 09/01/2012 | 719 | KLEBSIELLA PNEUMONIAE | 2 |
| 24602 | 11 | 0 SERGIO ROBERTO SANCHEZ TORRES | 02/02/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 180603 | 0 | 0 FRANCISCO SANCHEZ ARREDONDO | 18/02/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 1 |
| 180603 | 0 | 0 FRANCISCO SANCHEZ ARREDONDO | 20/02/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 1 |
| 494523 | 0 | 0 OSCAR PLAZA DIAZ | 25/02/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 494523 | 0 | 0 OSCAR PLAZA DIAZ | 28/02/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 494523 | 0 | 0 OSCAR PLAZA DIAZ | 28/02/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 494523 | 0 | 0 OSCAR PLAZA DIAZ | 02/03/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 496478 | 12 | 0 LUCIA DOMINGUEZ SALAS | 04/03/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 356252 | 0 | 0 MANUEL PEREZ MARTINEZ | 28/03/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 1 |
| 125193 | 0 | 0 JAVIER MELCHOR AVALOS | 04/04/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 1 |
| 838689 | 0 | 0 GERARDO AGUILAR LOPEZ | 04/04/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 1 |
| 156906 | 0 | 0 ANGEL ALMAGUER SARABIA | 05/04/2012 | 719 | SERRATIA MARCESCENS | 1 |
| 156906 | 0 | 0 ANGEL ALMAGUER SARABIA | 05/04/2012 | 719 | SERRATIA MARCESCENS | 1 |
| 75351 | 8 | 0 LEONILA FLORES RIVAS | 10/04/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 245982 | 0 | 0 MARIA DOLORES SUSANA PAZ Y TOVAR | 12/06/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 117638 | 0 | 0 MA GUADALUPE HERNANDEZ GARCIA | 14/06/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 117638 | 0 | 0 MA GUADALUPE HERNANDEZ GARCIA | 25/06/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 117638 | 0 | 0 MA GUADALUPE HERNANDEZ GARCIA | 25/06/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 117638 | 0 | 0 MA GUADALUPE HERNANDEZ GARCIA | 28/06/2012 | 719 | ESCHERICHIA COLI | 2 |

Anexo 2

| FICHA | CODI EMP | PACIENTE | FECHA TOMA | CVE_ESTUDIO | RESULTADO | BLEE |
|--------|----------|----------------------------------|------------|-------------|----------------------------------|------|
| 90496 | 14 | 0 MARIA ABIGAIL RAMIREZ ROMAN | 02/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 99224 | 8 | 0 MARIA ARACELI ESTRELLA PERDOMO | 02/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 99224 | 8 | 0 MARIA ARACELI ESTRELLA PERDOMO | 02/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 128285 | 8 | 0 SOCORRO CAUDILLO CABRERA | 02/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 128285 | 8 | 0 SOCORRO CAUDILLO CABRERA | 02/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 148722 | 8 | 0 JULIA MARTA CHAZARI GONZALEZ | 02/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 148722 | 8 | 0 JULIA MARTA CHAZARI GONZALEZ | 02/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 236262 | 0 | 0 FERNANDO DIEGO DE PAZ | 02/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | 1 |
| 324296 | 5 | 0 AVELINO BELLO MANCILLA | 02/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 324296 | 5 | 0 AVELINO BELLO MANCILLA | 02/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 519456 | 0 | 0 YAZMIN VELAZQUEZ NUÑEZ | 02/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 519456 | 0 | 0 YAZMIN VELAZQUEZ NUÑEZ | 02/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 870843 | 0 | 0 LAURA HERNANDEZ MENDOZA | 02/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 870843 | 0 | 0 LAURA HERNANDEZ MENDOZA | 02/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 126802 | 0 | 0 JAVIER GONZALEZ DELGADO | 03/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 126802 | 0 | 0 JAVIER GONZALEZ DELGADO | 03/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 510707 | 6 | 0 ANGELA JIMENEZ RICARDEZ | 03/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | 1 |
| 510707 | 6 | 0 ANGELA JIMENEZ RICARDEZ | 03/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 138175 | 8 | 0 ERNESTINA TAPIA TORRES | 05/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 138175 | 8 | 0 ERNESTINA TAPIA TORRES | 05/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 230362 | 0 | 0 TOMAS ORTIZ JUAREZ | 05/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 245164 | 6 | 0 MARGARITA RAMOS CRUZ | 05/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 245164 | 6 | 0 MARGARITA RAMOS CRUZ | 05/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 351741 | 12 | 0 WANNIA CUELLAR CABALLERO | 05/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | |
| 351741 | 12 | 0 WANNIA CUELLAR CABALLERO | 05/01/2012 | 701 | 100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |
| 932443 | 8 | 0 ORALIA GARZA ORTIZ | 05/01/2012 | 701 | ESCHERICHIA COLI | 2 |
| 932443 | 8 | 0 ORALIA GARZA ORTIZ | 05/01/2012 | 701 | >100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI | |