



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
CARRERA DE QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

**Prevalencia de cepas portadoras de  
marcadores de resistencia (BLEE) aisladas  
en muestras clínicas provenientes de  
pacientes ambulatorios**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

Italia Abigail Morales Cedillo

DIRECTOR DE TESIS: Q.F.B. Salvador Eduardo Rodríguez Martínez

ASESOR DE TESIS: DRA. Martha Asunción Sánchez Rodríguez



MÉXICO, D.F.

FEBRERO 2014

## Agradecimientos

Quiero agradecer y dedicar ésta tesis en primer lugar a mis padres: **Benedicto Morales Rodríguez** y **Silvia Cedillo Sandoval** por que sin ellos no estaría aquí, por darme la vida y la oportunidad de estudiar una carrera profesional, gran parte de lo que soy es gracias a ellos, los amo.

Por siempre apoyarme e impulsar mis sueños hasta el final...

A esos **Seres Supremos** que guían y cuidan mi camino todos los días.

A mis **hermanos** por existir y aguantar mis estados de ánimo: **Iliana, Andoni, Daniel**.

A **Gerardo** por compartir su vida conmigo y siempre estar ahí desde hace bastantes años.

A mi jefe **Salvador Rodríguez Martínez** por creer en mí, dándome la oportunidad de trabajar en el departamento de Microbiología de Carpermor.

A la **Dra. Martha Sánchez Rodríguez** por su apoyo y guía en este proyecto, es uno de mis ejemplos a seguir en esta carrera.

A mi **Nena** por que llegó a mi vida sin esperarla, llenando de alegría mis días.

A mis **profesores** y **amigos** que me ayudan a ser mejor cada día.

A la **vida** por ser una mezcla mágica de sentimientos y aventuras inimaginables.

*“Respira tu vida, que el lugar es hermoso”.*

# INDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
3. Marco Teórico.....	4
4. Planteamiento del problema.....	23
5. Objetivos.....	24
6. Hipótesis.....	25
7. Diseño Experimental.....	26
8. Procedimiento.....	27
9. Resultados .....	30
10. Discusión.....	36
11. Conclusión.....	47
12. Propuestas.....	48
13. Bibliografía.....	49

## RESUMEN

**Antecedentes:** Hasta hace poco, se consideraba que los microorganismos productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) causantes de infecciones eran un problema casi exclusivamente nosocomial, pero ahora es bien sabido que *E. coli* productora de betalactamasa, se encuentra en la comunidad (pacientes ambulatorios) con una prevalencia relativamente alta especialmente en infecciones de vías urinarias, en heces de portadores sanos, así como infecciones por *K. pneumoniae*. Con lo cual cabe suponer que la extensión de las BLEE es generalizada en pacientes ambulatorios pero su epidemiología aún no ha sido del todo estudiada.

**Objetivo:** Determinar la prevalencia de cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en población ambulatoria de un laboratorio de referencia.

**Metodología:** Se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo, prolectivo, transversal en 42180 muestras provenientes de urocultivos, espermocultivos, exudados diversos y hemocultivos recibidas en el área de Microbiología del Laboratorio de Referencia Carpermor del 1 de enero al 30 de junio del 2012. La siembra de muestras se realizó en medios de cultivos adecuados e incubación en diferentes condiciones atmosféricas y temperatura. La identificación de los microorganismos se llevó a cabo con diferentes técnicas (manuales y automatizadas) y la realización del antibiograma y detección de BLEE en el equipo VITEK® 2 de BioMérieux.

**Resultados:** Se obtuvieron 11373 (27%) aislamientos positivos. Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron *E. coli* y *K. pneumoniae* en todos los tipos de muestras; obteniendo más del 40% de ambas cepas BLEE positivas (BLEE+) en exudados diversos y espermocultivos, 30 % para *E. coli* y 13% para *K. pneumoniae* provenientes de urocultivos; encontrando una diferencia estadísticamente significativa entre urocultivo vs. exudados diversos ( $p < 0.0001$ ). Estratificando las cepas BLEE + por sexo, se observó que *E. coli* es más frecuente en mujeres (69%) y *K. pneumoniae* se presenta casi con la misma frecuencia en ambos sexos. El 31% de *E. coli* y el 45% de *K. pneumoniae* productoras de BLEE se aislaron de pacientes mayores de 70 años. La prevalencia de aislamientos de cepas BLEE+ de ambos microorganismos se incrementa conforme aumenta la edad, notándose un aumento paulatino en el caso de *E. coli* y un mantenimiento entre 10 y 20% para *K. pneumoniae* que se incrementa después de los 70 años. En cuanto al comportamiento frente a los antimicrobianos para *E. coli* productora de BLEE se encontró una resistencia mayor del 50% a las quinolonas, Trimetoprima/Sulfametoxazol, combinación de  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, penicilinas, cefalosporinas, y aztreonam y susceptibilidad del 99% a carbapenems y tetraciclinas, 85% a nitrofurantoína y 78% a aminoglucósidos. En *K. pneumoniae* productora de BLEE se encontró una resistencia del 99% a la penicilina y mayor del 60% a nitofurantoína, cefalosporinas, con una susceptibilidad del 99% a carbapenems, 90% a aminoglucosidos y tetraciclinas y 80% a quinolonas.

**Conclusión:** Más del 40% de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas fueron BLEE positivas, encontrándose *E. coli* en el 69% de pacientes del sexo femenino y *K. pneumoniae* no mostró diferencia por sexo. La prevalencia de aislamientos de ambos microorganismos es alta después de los 70 años. *E. coli* BLEE positiva es resistente en más del 50% a quinolonas, trimetoprima/sulfametoxazol, combinación de  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, penicilinas, cefalosporinas, y aztreonam y *K. pneumoniae* en el 99% a la penicilina y mayor del 60% a nitofurantoína, cefalosporinas; ambas son susceptibles en un 99% a carbapenems.

## INTRODUCCIÓN

Los antimicrobianos son fármacos utilizados para el tratamiento de las enfermedades infecciosas producidas por las bacterias.

La particularidad de este grupo terapéutico reside en el hecho de que su blanco farmacológico no esté localizado en un tejido particular del organismo humano, sino en una bacteria hospedada accidentalmente o permanente en el hombre.

El antimicrobiano debe satisfacer una doble exigencia: ser la molécula más tóxica posible para la bacteria de actuación y la molécula menos tóxica posible para el organismo hospedador de esa bacteria. El hecho de poder producir el blanco bacteriano del antimicrobiano en gran cantidad ha tenido como consecuencia que estos fármacos se encuentren entre los que mejor se conocen los mecanismos de acción molecular y como consecuencia, los mecanismos de resistencia desarrollados por las bacterias.

La resistencia antimicrobiana es uno de los principales problemas de salud pública en todo el mundo y se está incrementando ahora en los países en desarrollo. Aún cuando la selección natural de las bacterias hace que cierta resistencia sea inevitable el problema se magnifica por el mal uso y abuso de los antimicrobianos, incluyendo la falta de continuidad del paciente a la prescripción médica, venta de antimicrobianos sin receta y productos falsificados.

El uso no terapéutico de antimicrobianos para promover el crecimiento en animales comestibles, contribuye al desarrollo de resistencia bacteriana con el riesgo de que estas cepas resistentes se transmitan a los humanos vía la cadena alimenticia.

Existen pocos antimicrobianos en desarrollo que cumplen con el desafío de multidrogo resistencia y el uso más prudente de éstos es crucial para conservar su eficacia.

En general, los antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos son los preferidos para el tratamiento de las infecciones bacterianas debido a su baja toxicidad y a su amplio espectro. La causa más común de resistencia a los antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos es la producción de enzimas  $\beta$ -lactamasas. La aparición de las  $\beta$ -lactamasas es un fenómeno natural debida a sustancias bacterianas (bacteriocinas o colicinas) que producen para competir por un nicho con otro microorganismo.

Conocido desde 1940 cuando fue identificada la primera enzima en *E. coli*, algunas  $\beta$ -lactamasas como las sintetizadas por *S. aureus* han permanecido estables por décadas y tienen un limitado espectro de actividad, hidrolizando a la penicilina G pero no a las penicilinas semisintéticas. En cambio las sintetizadas por Gram negativos TEM-1, TEM-2 y SHV-1 codificadas en plásmidos y con un amplio espectro de actividad contra  $\beta$ -lactámicos no permanecieron estables por muchos años.

Su diseminación es consecuencia de la presión ejercida por la introducción de Ampicilina, Carbenicilina y las primeras cefalosporinas en los años 60.

La aparición e introducción de los antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos de espectro extendido (piperacilina, ceftazidima, cefotaxima, aztreonam) en los años 80s conllevó a la emergencia de una nueva clase de enzimas  $\beta$ -lactamasas, las de espectro extendido (BLEE). Estas enzimas mediadas por plásmidos fueron descritas en Alemania en 1983 a partir de un aislamiento de *K. pneumoniae*.

Actualmente es motivo de preocupación y se considera un problema serio de salud pública por sus implicaciones clínicas y económicas. La terapia inadecuada basada en un resultado de laboratorio impreciso, puede prolongar la hospitalización, el fallo terapéutico y podría elevar la mortalidad de ciertos pacientes; de ahí la importancia de la detección de portadores ambulatorios.

## MARCO TEÓRICO

Aunque las estructuras de las bacterias Gram positivas y Gram negativas son similares, existen algunas diferencias clave. Estas diferencias son la base de la capacidad que tiene un agente antimicrobiano para inhibir el crecimiento ya sea de bacterias Gram positivas o Gram negativas. Sin embargo, algunos agentes antimicrobianos actúan en ambos tipos de bacteria y éstos a menudo se conocen como agentes antimicrobianos de amplio espectro. Es importante conocer la estructura de las bacterias Gram positivas y Gram negativas para comprender como actúan los antimicrobianos en éstas.<sup>1</sup>

### Estructura de las bacterias Gram negativas.

#### Pared Celular<sup>1</sup>

Está compuesta de diferentes estructuras, como se muestra en la figura 1:

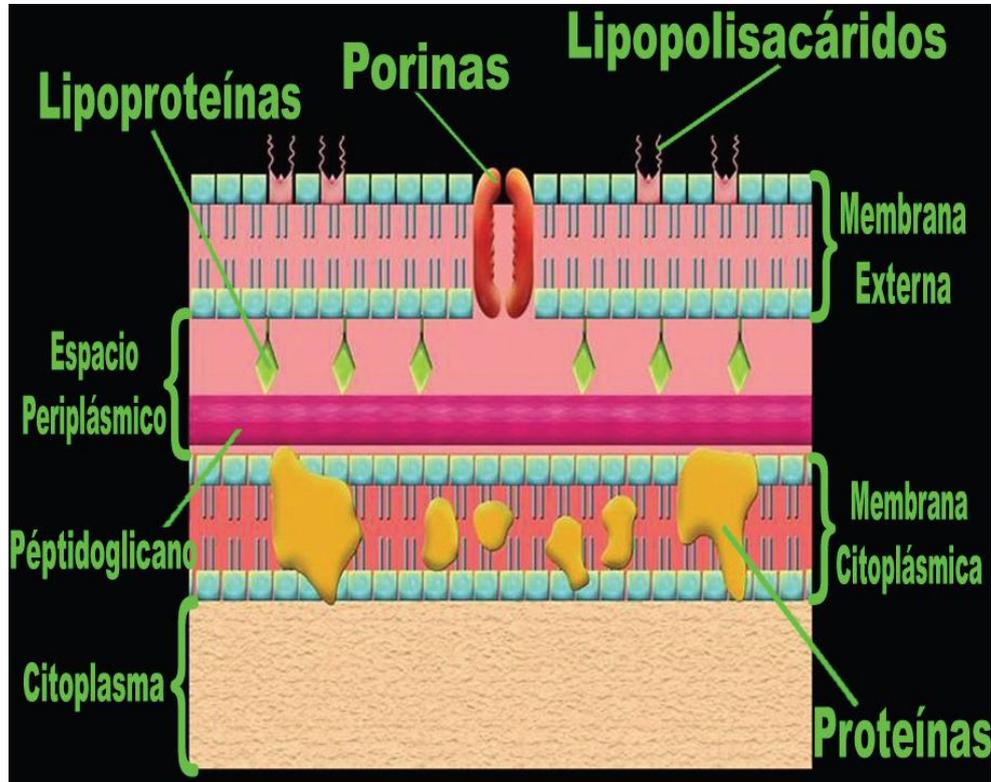
- **La membrana externa** sirve como la principal barrera de permeabilidad de la célula y constituye una estructura de resistencia a los factores de defensa del hospedador. Es la que protege a las enterobacterias en el tubo digestivo de la degradación por las sales biliares y las enzimas pancreáticas.
- **Porinas** son canales llenos de agua en la membrana externa que facilitan el transporte de nutrientes y sustancias de bajo peso molecular dentro de la célula, incluyendo agentes antimicrobianos. Las bacterias varían en el número y tipo de porinas que contienen.<sup>1</sup>
- **Lipopolisacáridos**, se encuentran en la superficie de la célula y son el componente esencial de las endotoxinas. Ellos contribuyen a la capacidad de la bacteria para causar enfermedad y dan a las bacterias Gram negativas su carga negativa neta.
- La **capa de peptidoglicano** de las bacterias Gram negativas es un polímero relativamente delgado que consiste de ácido N-acetil murámico y N-acetil glucosamida entrelazados. Esta se conoce con frecuencia como la capa de mureína o pared celular y es responsable de mantener la forma del organismo. Está localizado dentro del espacio periplásmico.
- El **espacio periplásmico** se encuentra entre la membrana externa y la membrana citoplasmática. Contiene por lo tanto al peptidoglicano, en él se encuentran numerosas enzimas, entre las cuales están las enzimas hidrolíticas y, en particular, las  $\beta$ - lactamasas

#### Membrana Citoplásmica

Rodea el citoplasma de la célula, contiene proteínas y fosfolípidos. Muchas de las proteínas contenidas en la membrana celular son enzimas responsables del metabolismo celular. La membrana citoplásmica también sirve como una barrera de permeabilidad y un enlace de permeabilidad para las sustancias que entran en la célula.

## Citoplasma y Otros Componentes Internos

El citoplasma celular contiene los cromosomas, ribosomas y otras estructuras internas.<sup>1</sup>

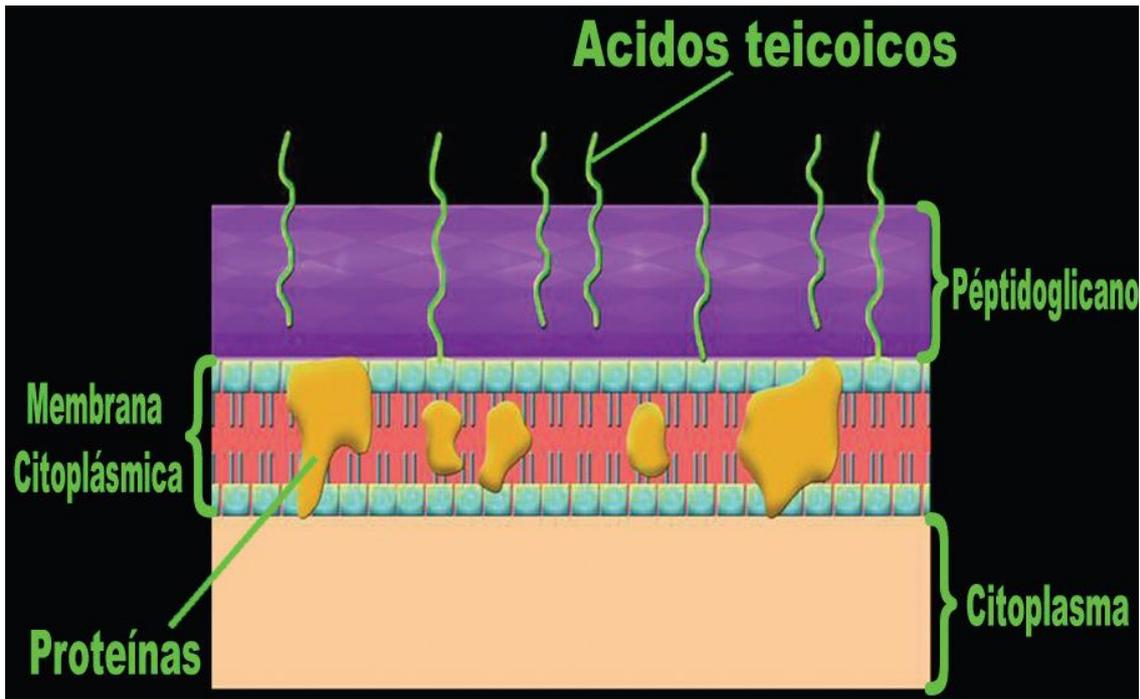


**Figura 1.** Estructura de la pared celular de una bacteria Gram negativa. Tomado de: Cavalieri SJ, 2002.

### *Estructura de las bacterias Gram positivas*

La pared celular de las bacterias Gram positivas contiene solo dos componentes principales, por lo que es mucho menos complicada que la de las Gram negativas (Figura 2). Los componentes de las membranas de bacterias Gram positivas son:

- **Ácidos teicoicos** son polímeros que están entrelazados en la capa de peptidoglicano y se extiende en forma de cilios más allá de la superficie de las células. Estos son también importantes antígenos de superficie en aquellos organismos que los poseen.
- La capa de peptidoglicano, o capa de mureína es mucho más gruesa que la de las bacterias Gram negativas. Es responsable de mantener la forma del organismo y por lo general se conoce como pared celular.<sup>1,2</sup>



**Figura 2.** Estructura de la pared celular de una bacteria Gram positiva. Tomado de: Cavalieri Stephen J, 2002.

**Cuadro 1.** Diferencia de la pared celular entre bacterias Gram positivas y negativas.

	<b>Bacterias Gram positivas</b>	<b>Bacterias Gram negativas</b>
Capa de peptidoglicanos	Gruesa (múltiples capas)	Delgado (una sola capa)
Ácidos teicoicos	Presentes	Ausentes
Espacio periplásmico	Ausente	Presente
Membrana externa	Ausente	Presente
Contenido de LPS	Casi nulo	Abundante
Producción de toxinas	Casi exclusivamente exotoxinas	Casi exclusivamente endotoxinas

Fuente: Tay ZJ, 2003.

## ANTIMICROBIANOS

### Clasificación

Los antimicrobianos han sido clasificados en función de su diferenciación según el lugar donde actúa en la bacteria o los procesos fisiológicos con los que interactúa:

- activos sobre la pared bacteriana
- activos sobre la membrana citoplásmica
- activos sobre los procesos localizados en el citoplasma bacteriano: síntesis protéica, replicación del ADN o ambos.
- que inhiben una ruta metabólica.

Dentro de cada uno de estos grupos, la clasificación por familias se basa en la estructura química de las diferentes moléculas y a cada familia le corresponde un mecanismo molecular específico.<sup>3</sup>

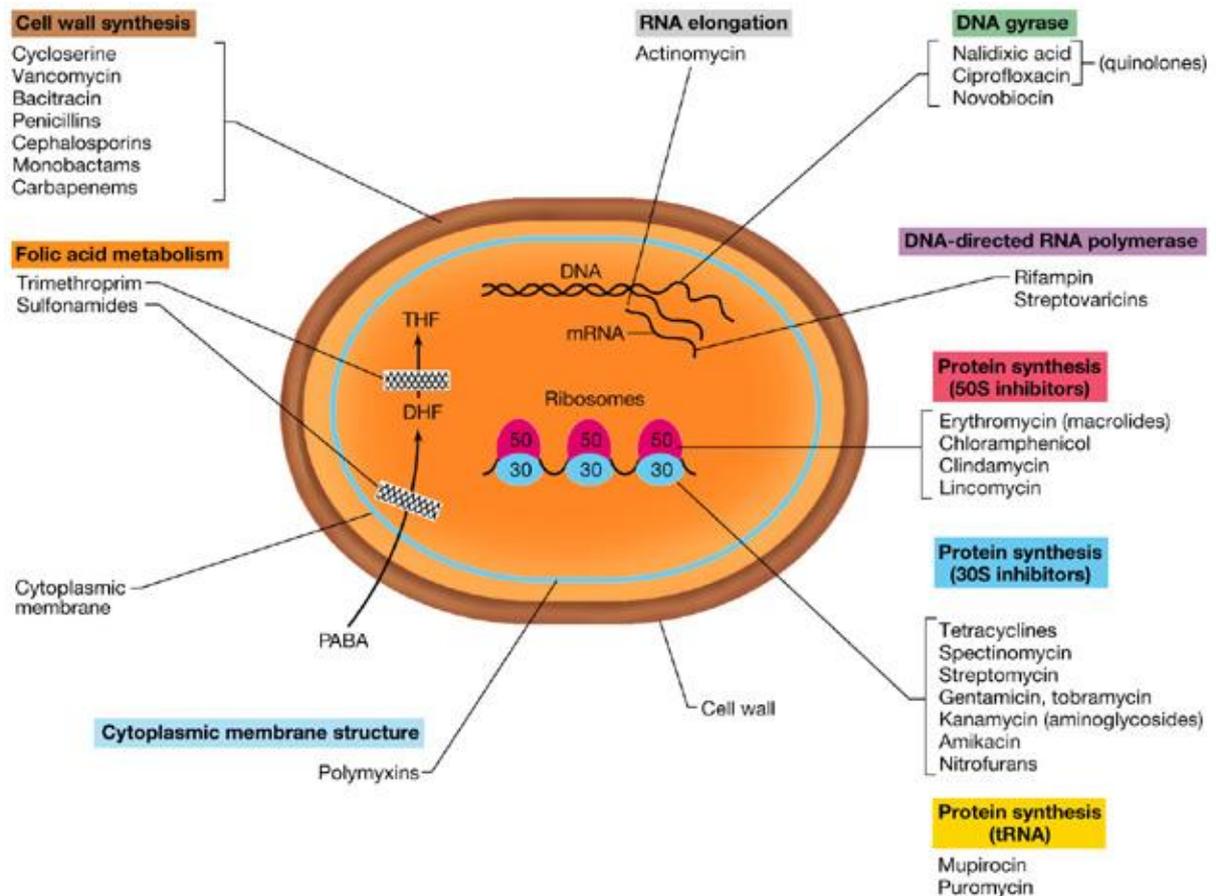
1. Antimicrobianos activos sobre la pared bacteriana:
  - $\beta$ - lactámicos
  - Glicopéptidos
  - Fosfonopéptidos (fosfomicina)
2. Antimicrobianos activos sobre la membrana citoplásmica:
  - Gramicidinas
  - Polimixinas
3. Antimicrobianos activos sobre la síntesis protéica:
  - Aminoglicósidos, tetraciclina, macrólidos, lincosamidas, cetólidos, estreptograminas, rifampicina, cloramfenicol.
4. Antimicrobianos activos sobre la replicación del ADN:
  - Fluoroquinolonas
5. Antimicrobianos inhibidores de vías metabólicas:
  - Sulfamidas
  - Trimetoprim
6. Inhibidores de  $\beta$ -lactamasas
  - Ác. Clavulánico
  - Aztreonam
  - Tazobactam, Sulbactam

Las diferencias en la pared bacteriana de Gram positivos y negativos son la base de la capacidad que tiene un antimicrobiano para inhibir el crecimiento ya sea de bacterias Gram

positivas o Gram negativas. Sin embargo, algunos antimicrobianos actúan en ambos tipos de bacterias conociéndose a menudo como agentes antimicrobianos de amplio espectro.<sup>3</sup>

### Espectro de acción

Según el número de especies bacterianas sobre las cuales un antimicrobiano tiene efecto se clasifican en antimicrobianos de amplio espectro o de espectro reducido. Los antimicrobianos de amplio espectro tienen acción sobre una gran cantidad de gérmenes Gram positivos y negativos como las cefalosporinas, aminoglucósidos y quinolonas. Otros de espectro reducido actúan sobre un grupo más limitado de especies bacterianas como la Vancomicina y la Eritromicina que actúan sólo sobre los Gram positivos.



**Figura 3.** Mecanismos de acción de los antimicrobianos. Fuente disponible en: <http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/14agquimicos.htm>

## *Mecanismos de resistencia antimicrobiana*

Millones de dosis de antimicrobianos se consumen anualmente en todo el mundo, del cual el 20-50% de ese uso es innecesario.<sup>4</sup>

La extensa y emergente presencia de organismos multidrogo resistentes es facilitada por:

- El incremento de viajes intercontinentales y el comercio global.
- El incremento en el número de infecciones asociadas al cuidado de la salud.
- Abuso en la prescripción de antimicrobianos de amplio espectro.

Los viajes y el intercambio de productos de consumo permiten el contacto íntimo entre hospederos y agentes etiológicos desconocidos. Los hospederos a su vez pueden ser el vehículo para que esos agentes etiológicos exóticos (procedentes de un país lejano) entren en contacto con poblaciones vírgenes a su exposición.

La resistencia antimicrobiana se origina en la selección de especies con resistencia inherente durante la exposición a medicamentos antibacterianos o debido a la aparición de variantes resistentes entre las sensibles.<sup>4</sup>

La resistencia de especies previamente susceptibles puede evolucionar por mutación y transmitirse en forma vertical en una misma especie o puede ser el resultado de la adquisición horizontal de material genético de otras bacterias. Esto último puede ocurrir como consecuencia de la acción de plásmidos, transposones.

El uso excesivo e inapropiado de antimicrobianos es probablemente el factor más importante en el desarrollo de la resistencia a estos medicamentos, por lo general, el uso intensivo en la comunidad se debe a que en algunos países los antimicrobianos se venden sin receta (aunque la ley lo prohíba) siendo su venta libre.<sup>4, 5, 6</sup>

De ahí la importancia que tiene la reciente decisión de las autoridades sanitarias por la cual se reafirma la obligatoriedad de la prescripción para la venta de antimicrobianos.

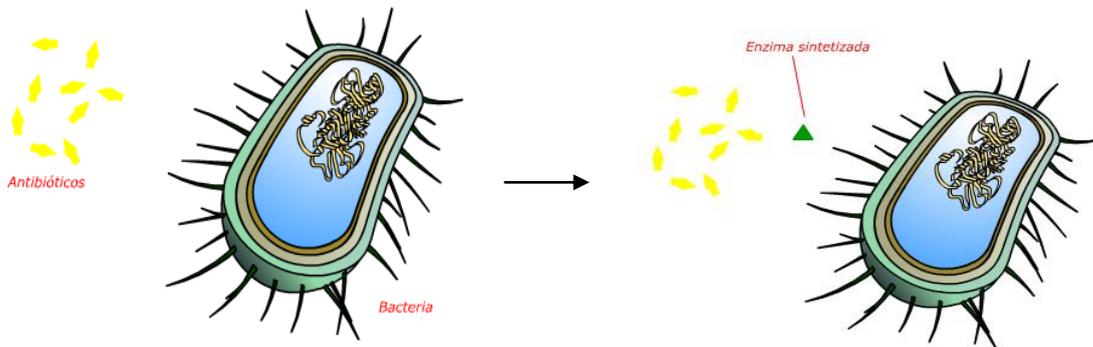
Hay una serie de formas en que los microorganismos son resistentes a los agentes antimicrobianos. Estos incluyen:

- producción de enzimas; la bacteria produce enzimas que destruyen el agente antimicrobiano antes que este alcance su blanco o modifica el agente antimicrobiano de tal forma que ya no puede ser reconocido por su blanco.
- la pared celular se vuelve impermeable al agente antimicrobiano.
- el sitio diana es alterado por mutación de tal manera que ya no permite la unión del agente antimicrobiano.
- la bacteria posee una bomba de eflujo que expelle al agente antimicrobiano de la célula antes que este alcance su blanco.

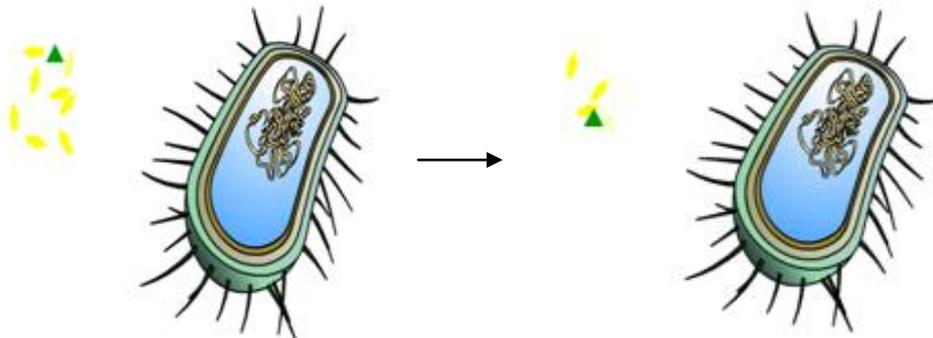
- rutas metabólicas específicas dentro de la bacteria, son alteradas genéticamente para que el agente antimicrobiano no pueda provocar un efecto.<sup>1,3,7</sup>

## La bacteria es capaz de sintetizar una enzima que hidroliza el antimicrobiano

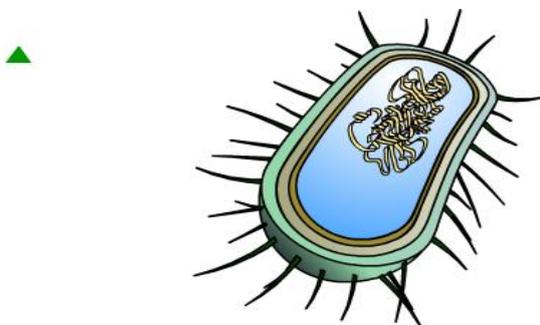
1.



2.



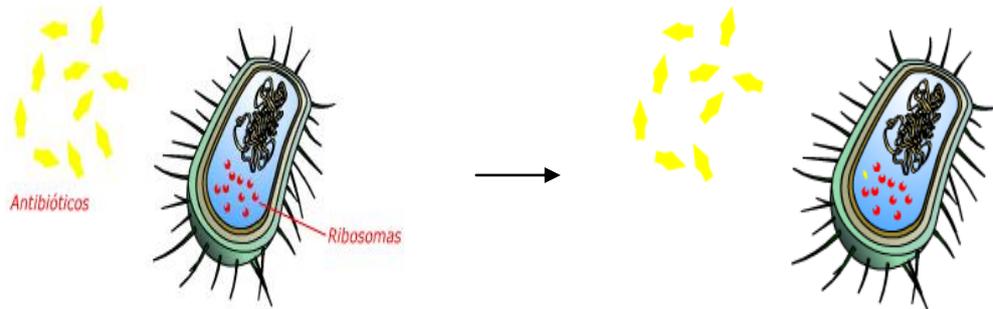
3.



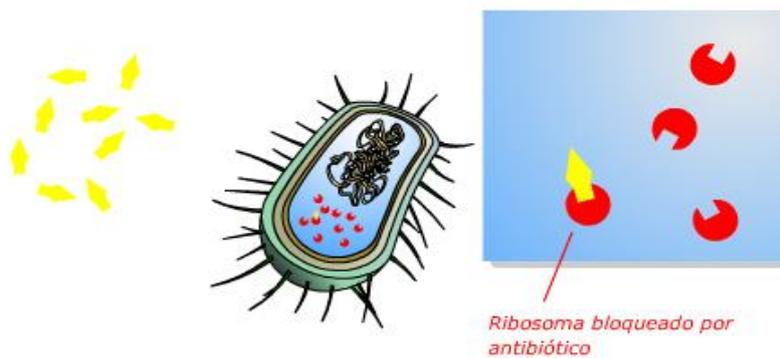
**Figura 4.** Producción de enzimas. Fuente: Cruz F, 2010.

**El antimicrobiano ataca una parte específica de la bacteria en éste caso los ribosomas.**

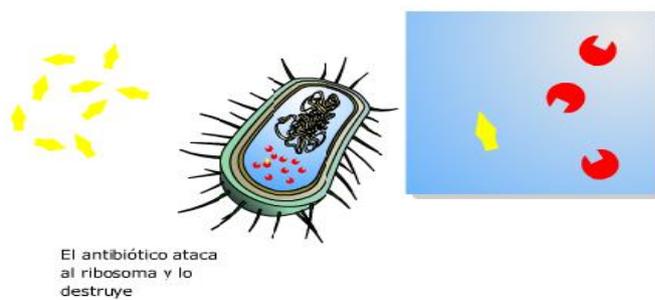
1.



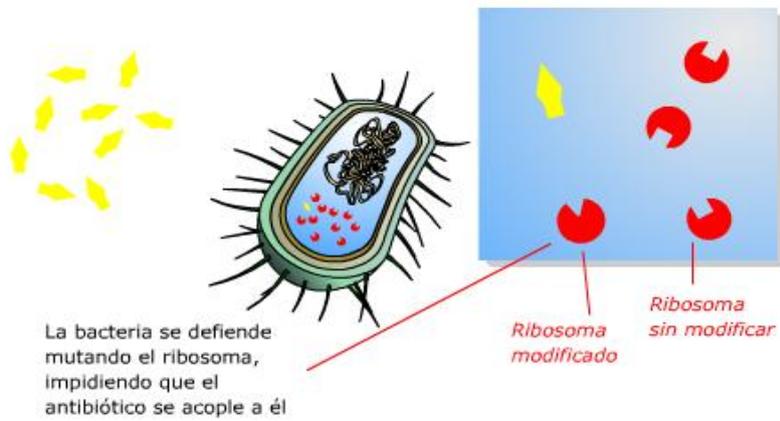
2.



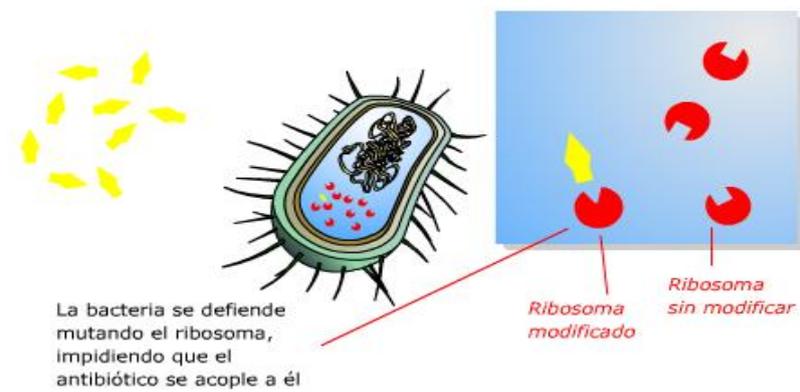
3.



4.

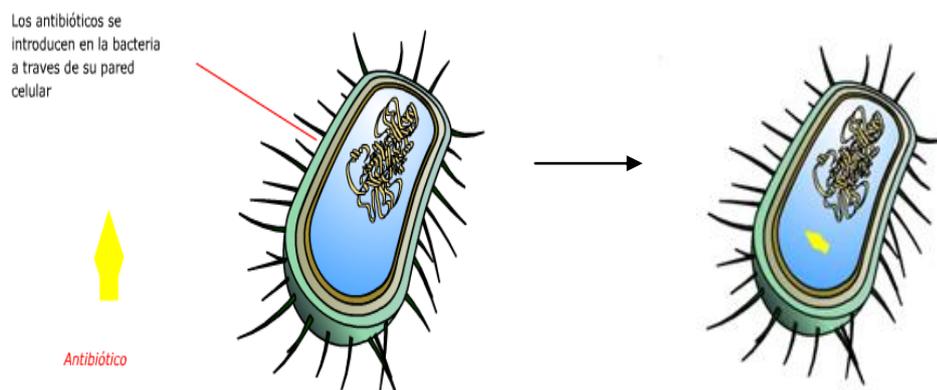


5.



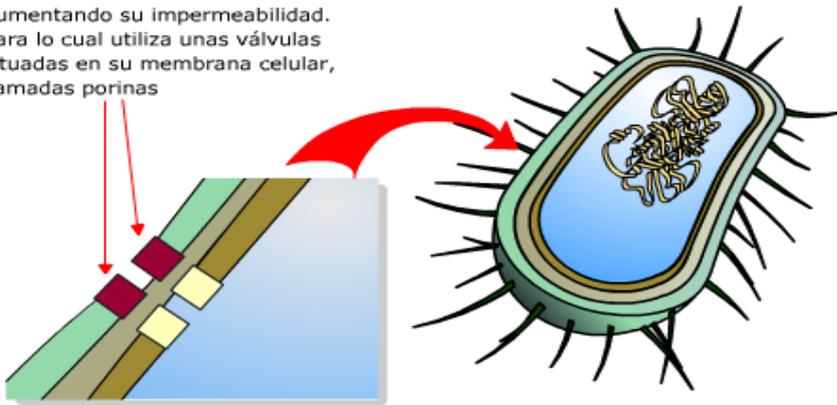
**Figura 5.** Modificación del sitio diana. Fuente: Cruz F, 2010.

## Porinas

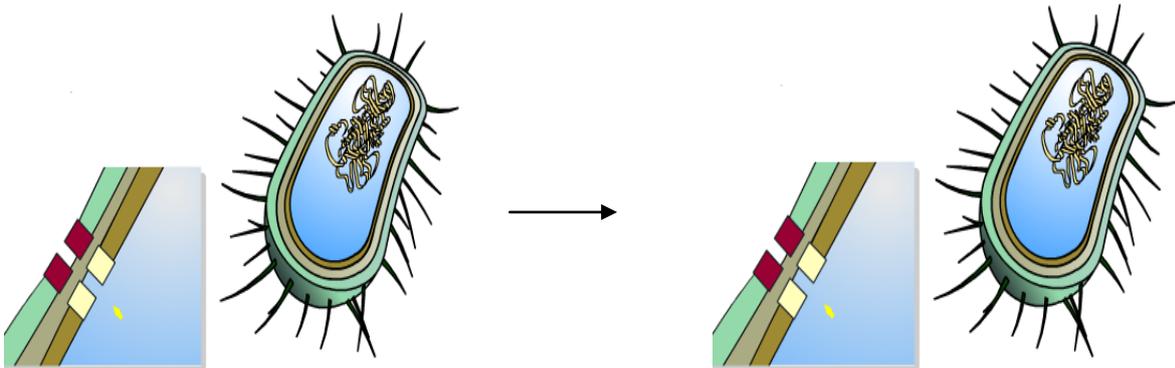


1.

La bacteria se defiende aumentando su impermeabilidad. Para lo cual utiliza unas válvulas situadas en su membrana celular, llamadas porinas

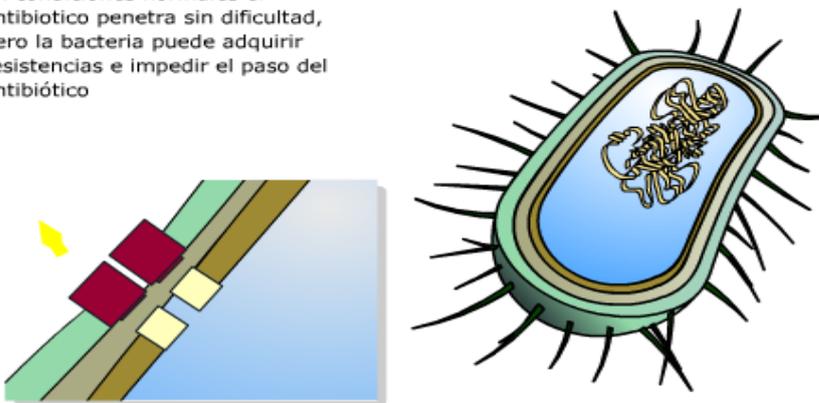


2.



3.

En condiciones normales el antibiótico penetra sin dificultad, pero la bacteria puede adquirir resistencias e impedir el paso del antibiótico

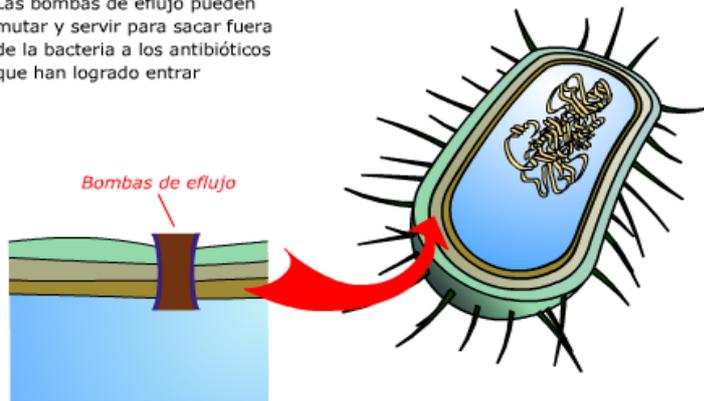


**Figura 6.** Disminución de la permeabilidad. Fuente: Cruz F, 2010.

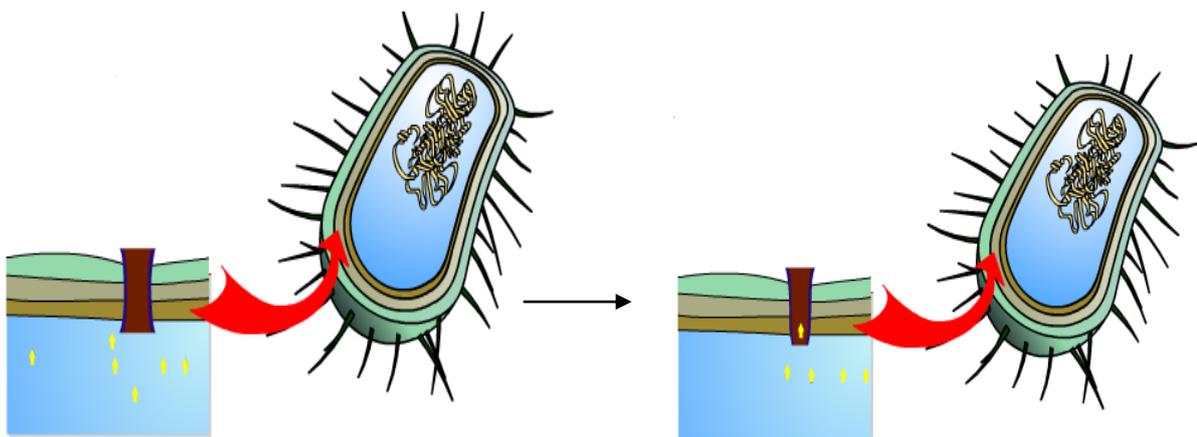
En la membrana celular existen las llamadas bombas de eflujo, que sirven para que la bacteria realice intercambios con el exterior.

1.

Las bombas de eflujo pueden mutar y servir para sacar fuera de la bacteria a los antibióticos que han logrado entrar



2.



3.

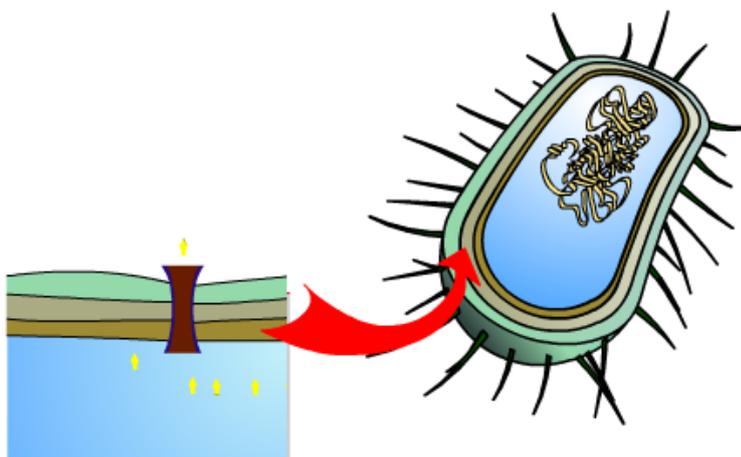
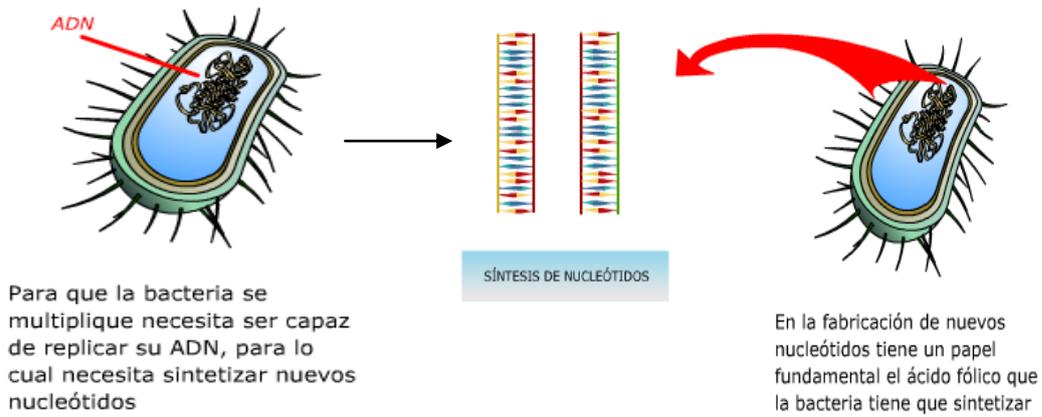
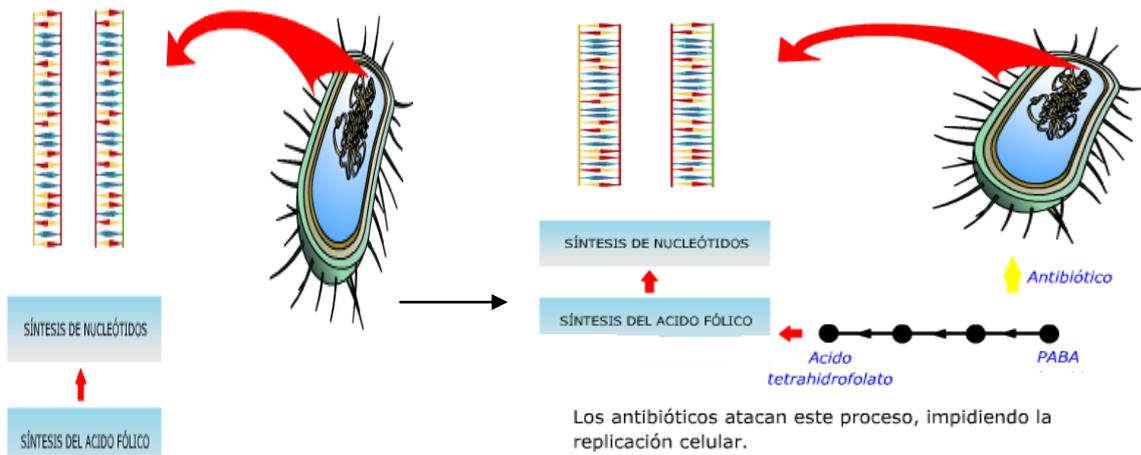


Figura 7. Bombas de eflujo. Fuente: Cruz F, 2010.

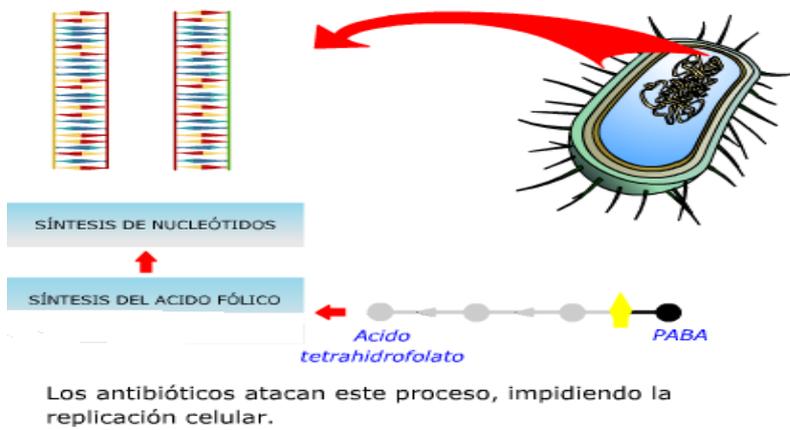
1.



2.



3.



**Figura 8.** Proceso metabólico alterado. Fuente: Cruz F, 2010.

La producción de BLEE por parte de diversos patógenos de importancia clínica constituye un importante problema en los pacientes hospitalizados debido a las implicaciones clínicas, terapéuticas y económicas. Un estudio realizado en Israel demostró que existe un incremento de 9.62 dólares por cada paciente sobre los costos de hospitalización atribuidos a los pacientes infectados por gérmenes productores de BLEE.<sup>7, 8, 9, 10, 11</sup>

Algunos factores de riesgo asociados a la colonización e infección por organismos productores de BLEE<sup>7, 5, 6</sup>

- Uso excesivo de antimicrobianos, principalmente cefalosporinas de 2<sup>a</sup> y 3<sup>a</sup> generación, penicilinas y quinolonas.
- Pacientes hospitalizados en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI)
- Edad (> 60 años)
- Inmunosupresión
- Infecciones de tracto urinario recurrentes
- Colonización gastrointestinal por cepas portadoras de BLEE
- Portadores de catéteres, hemodiálisis, ventilación mecánica
- Pacientes con alguna enfermedad de base como diabetes mellitus.

### ***Beta-Lactamasas***

Son enzimas producidas por bacterias que inactivan a los  $\beta$ -lactámicos al hidrolizar su anillo. En las bacterias Gram positivas las  $\beta$ -lactamasas son secretadas extracelularmente en el medio circundante de forma que los  $\beta$ -lactámicos son inactivados en el medio que las rodea antes de que estas tengan oportunidad de entrar a la célula.

En las bacterias Gram negativas los  $\beta$ -lactámicos entran a la célula a través de las porinas encontrando a las  $\beta$ -lactamasas en el espacio periplásmico. Destruyendo a los  $\beta$ -lactámicos antes de que puedan llegar a su diana farmacológica.<sup>1, 7, 9</sup>

### ***Beta-Lactamasas de Espectro Extendido (BLEE)***

La mayoría de las  $\beta$ -lactamasas inactivan ya sea penicilinas o cefalosporinas de amplio espectro, y de allí su denominación como BLEE, pero algunas son capaces de inactivar ambos tipos de antimicrobianos.

Confieren resistencia a las penicilinas, a todas las cefalosporinas y al aztreonam pero no a los carbapenems ni a las cefamicinas y la mayoría son inhibidas por el ácido clavulánico. La aparición de las  $\beta$ -lactamasas es un fenómeno natural, se conoce desde 1940 cuando fue identificada la primera enzima en *E.coli*.<sup>11</sup>

Como los genes que codifican estas  $\beta$ -lactamasas son transportados por plásmidos, su transmisión a otras especies y géneros bacterianos se produjo rápidamente y su expansión geográfica no se hizo esperar.<sup>11</sup>

Las BLEE se han observado en prácticamente todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae*. Las enterobacterias productoras de BLEE son generalmente patógenos

nosocomiales y a menudo responsables de los brotes especialmente en las unidades de cuidados intensivos. Sin embargo, muchos estudios han demostrado la gran propagación de cepas productoras de BLEE y plásmidos que codifican BLEE. La mayoría de los pacientes hospitalizados siguen llevando enterobacterias productoras de BLEE por períodos prolongados contribuyendo a su propagación extrahospitalaria. Además, cepas adquiridas en la comunidad que poseen plásmidos productores de BLEE pueden ser inducidas cuando se exponen a antimicrobianos de amplio espectro.<sup>12</sup>

Actualmente es motivo de preocupación y se considera un problema serio de salud pública ya que las consecuencias clínicas se reflejan en el incremento de la estancia hospitalaria, la mortalidad y los costos de la atención médica<sup>1, 7, 11</sup>

### **Clasificación de BLEE**

Son clasificadas de acuerdo a 2 esquemas el de Ambler y el de Bush-Jacoby-Madeirasos

- 1) Ambler: se basa en la estructura molecular de la  $\beta$ -lactamasa y su secuencia de aminoácidos, posee 4 clases A, B, C, D.

En esta clasificación la clase B son metaloproteínas tienen 1 ó 2 moléculas de zinc en su zona activa y son inhibidas por EDTA el resto son serino  $\beta$ -lactamasas, poseen serina en su zona activa e incluyen grupos de enzimas relacionados por su evolución.

- 2) Bush-Jacoby-Madeirasos: se basa en la similitud funcional y la característica de inhibición o no por el ácido clavulánico. Define 4 grupos de acuerdo a los substratos hidrolizados y perfiles de inhibición

- Grupo1: cefalosporinasas que no son adecuadamente inhibidas por el ácido clavulánico.
- Grupo2: penicilinasas, cefalosporinasas y carbapenemasas que generalmente son inhibidas por inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam.
- Grupo3: metalo  $\beta$ -lactamasas que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y carbapenems que son inhibidas por EDTA y no por inhibidores estructuralmente relacionados a los  $\beta$ -lactámicos.
- Grupo 4: penicilinasas que no son inhibidas adecuadamente por el ácido clavulánico.

Según esta clasificación la mayoría de los  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son derivadas de TEM-1, TEM-2 y SHV1.

Las siglas TEM se derivan de las iniciales del primer paciente en quien fue aislada una *E.coli* productora de  $\beta$ -lactamasa en 1965, aislada de un cultivo de sangre de un paciente llamado Temoniera en Grecia. La SHV es considerada un pariente lejano de la TEM, las siglas se derivan de la clasificación inicial como una variedad sulfhidrilo.

Existen otras BLEE que difieren filogenéticamente de TEM y SHV como las CTX-M y las carbapenemasas tipo OXA y las metalo  $\beta$ -lactamasas VIM e IMP.

En la actualidad se han identificado al menos 340 BLEE que en su mayoría se han asignado a los grupos TEM o SHV en números secuenciales.

Los organismos productores de BLEE presentan un gran desafío para médicos, microbiólogos, epidemiólogos y científicos dedicados a la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos. Ya que al encontrarse las BLEE a menudo en plásmidos, son fácilmente transferibles, lo que hace más difícil su control.

Las BLEE son enzimas capaces de hidrolizar la tercera y cuarta generación de cefalosporinas tales como ceftazidima, cefotaxima, y cefepima así como aztreonam. Actualmente, los carbapenems son considerados como los fármacos de elección para el tratamiento de infecciones causada por organismos productores de BLEE.

La terapia antimicrobiana inadecuada basada en un resultado de laboratorio impreciso, es decir un antibiograma de rutina en el que no se detectan BLEE puede prolongar la hospitalización, y el fracaso terapéutico o de tratamiento, podría elevar la mortalidad de ciertos pacientes.<sup>1, 6, 7, 9, 10</sup>

Las infecciones causadas por bacterias productoras de BLEE suelen tratarse inicialmente de manera empírica, por lo que la administración del antimicrobiano idóneo se demora, lo cual conduce a una peor evolución de la enfermedad, más días de hospitalización y mayor costo.<sup>13</sup>

La tasa de fracaso terapéutico ha oscilado entre un 42-100% de los casos cuando pacientes con infecciones graves por patógenos productores de BLEE son tratados con cefalosporinas a las que el microorganismo es resistente. Debido a esto, se ha considerado importante la detección de BLEE.<sup>14</sup>

## **Epidemiología y Prevalencia de las BLEE**

Hasta ahora se habían encontrado principalmente en hospitales, pero ahora se está convirtiendo bastante común encontrarlas en la comunidad en especial en infecciones de vías urinarias.<sup>15</sup>

La detección de organismos productores de BLEE a partir de muestras tales como orina, sangre, heridas es importante porque esto representa un marcador epidemiológico de la colonización y por lo tanto el potencial de transferencia de tales organismos a otros pacientes.<sup>14</sup>

La posibilidad de diseminación de las BLEE es extraordinaria, debido a que están codificadas en plásmidos, lo cual posibilita no sólo la diseminación de este mecanismo de resistencia entre distintas cepas de la misma especie sino también entre diferentes especies bacterianas.<sup>7, 9, 10</sup>

Informes de España, Israel, Inglaterra, Canadá y Tanzania consideran como factor de riesgo, adquirir una infección de vías urinarias recurrentes por *E. coli* productora de BLEE en pacientes ambulatorios. Ya que es la causa más frecuente de Infecciones urinarias, intra-abdominales y de tejidos blandos. La resistencia a antimicrobianos comúnmente usados contra *E. coli*, representa un problema para su tratamiento. Por lo que debe considerarse importante y su epidemiología aún no ha sido del todo estudiada.<sup>14, 16</sup>

La epidemiología de las enterobacterias productoras de BLEE ha sufrido cambios en los últimos años; en un principio en los años 80 y principios de los 90 las BLEE eran del tipo TEM y SHV, se detectaban fundamentalmente en *K. pneumoniae* y el origen era nosocomial y se debía a clones epidémicos, mientras que en la actualidad en la mayoría de los países, son las CTX-M las más frecuentes, se aíslan principalmente en *E. coli*, son de origen comunitario y fundamentalmente se transmiten por plásmidos u otros elementos genéticos móviles.

A partir del año 2000 se ha observado un aumento de aislamientos de cepas de *E. coli* productoras de CTX-M que afectan a pacientes de la comunidad, principalmente implicadas en Infecciones del Tracto Urinario (ITU). Estas cepas de *E. coli* son también resistentes a quinolonas, y a aminoglucósidos.

Otro aspecto importante a destacar en la epidemiología de las BLEE principalmente en cepas de *E. coli* en su presencia como biota comensal en los humanos. El tracto digestivo es el reservorio de la mayoría de los uropatógenos y la colonización gastrointestinal normalmente precede a las ITU debidas a cepas portadoras de BLEE.

Encontrándose un 11.8% de portadores fecales de cepas de *E.coli* portadoras de BLEE en pacientes hospitalizados y un 5.5% en pacientes extrahospitalarios.<sup>7</sup>

Algunas  $\beta$ -lactamasas, como las sintetizadas por *S. aureus*, han permanecido estables por décadas y tienen un limitado espectro de actividad, hidrolizando a la penicilina G pero no a las penicilinas semisintéticas. En cambio, las  $\beta$ -lactamasas sintetizadas por Gram negativos, TEM-1, TEM2 y SHV-1 codificadas en plásmidos y con un amplio espectro de actividad vs.  $\beta$ -lactámicos, permanecieron estables por muchos años.

Su diseminación es consecuencia de la presión selectiva ejercida por la introducción de ampicilina, carbenicilina y las primeras cefalosporinas en los años 60.<sup>8</sup>

La aparición inicial de las BLEE en Europa oriental probablemente se debió a que las cefalosporinas de tercera generación fueron inicialmente introducidas para la utilización clínica en esta zona geográfica, pero en poco tiempo su uso se extendió y conllevó a la emergencia de las BLEE en el mundo.<sup>8</sup>

TEM1 fue detectada en un aislamiento de *E. coli* resistente a ampicilina en 1965 pero pronto fue frecuente en todas las enterobacterias. Los plásmidos que codifican las enzimas TEM-1 ahora aparecen en el 50-60% de las cepas de *E. coli* en todo el mundo y en 20-50% de los aislamientos de otras enterobacterias.

A principios de los años 80 aparecieron cepas bacterianas productoras de variantes de las enzimas antes mencionadas, con capacidad para hidrolizar cefalosporinas de 3ª generación (ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima) y fueron llamadas BLEE.

Las oximino-cefalosporinas y el oximino-monobactam (Aztreonam) fueron diseñados para resistir la actividad de las  $\beta$ -lactamasas, de manera que resultó desagradable el reporte en 1983 en Alemania sobre el hallazgo de cepas bacterianas productoras de enzimas para inactivarlas.

En 1988 reportaron BLEE codificadas en plásmidos y su origen fue debido a la transferencia del gen cromosomal que codifica para la BLEE llamada AmpC a plásmidos. Los plásmidos que codifican BLEE suelen contener otros genes de resistencia (para aminoglucósidos, cloramfenicol, tetraciclina, trimetoprima, etc.) por lo que el uso de alguno de los

antimicrobianos cuya resistencia esté codificada por el plásmido acaba seleccionando cepas multiresistentes.<sup>8</sup>

Estas enzimas son más comúnmente producidas por: *Klebsiella spp.*, y *E. coli*, pero también detectadas en *Enterobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Proteus spp* y *Citrobacter spp.*, *Morganella morgagnii*, *Serratia marcescens*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, etc.<sup>8</sup>

Es importante reseñar, al comparar los datos de prevalencia, que existen importantes diferencias en el diseño de los estudios realizados, ya que algunos estudios son multicéntricos, otros son relativos a todo tipo de muestras y otros se centran en ámbitos concretos. Tampoco hay que olvidar que las diferencias entre distintos países y años pueden ser debidas a brotes epidémicos.<sup>7</sup>

- Europa

Los primeros casos de enterobacterias productoras de BLEE fueron detectados en Europa, en concreto en Alemania e Inglaterra (1983), donde se detectó la variante SHV-2 en una cepa de *E. coli* en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos; pero fue en Francia donde se observó el primer brote nosocomial en 1986, tratándose de una cepa de *K. pneumoniae* con la variante TEM-3, produciéndose un aumento dramático de los casos de BLEE en los años sucesivos en todo el mundo.

En los años 90s, en Francia se observó que del 25 al 30% de los aislamientos de *K. pneumoniae* eran portadores de BLEE, por lo que se adoptaron medidas de control lo que hizo disminuir la tasa de infecciones de *K. pneumoniae* productora de BLEE de un 20% en 1996 a un 8% en el año 2000. Es importante destacar que un 30% de los aislamientos de *Enterobacter aerogenes* fueron portadores de BLEE en el año 2000.

Existe una gran diversidad geográfica dentro Europa en cuanto a la prevalencia de BLEE, encontrándose en Rusia, 50%, Polonia con un 40%, Suecia 3%, Portugal 34%, todos provenientes de aislamientos de pacientes de unidades de cuidados intensivos.

Datos franceses arrojan una prevalencia de *E. aerogenes* del 53%, *K. pneumoniae* 9% y *E. coli* del 0.2%. En Europa la prevalencia de las BLEE para *K. pneumoniae* está entre 14-16% pudiendo alcanzar el 40% en unidades de cuidados intensivos.

Según datos del SENTRY (Antimicrobial Surveillance Program) la prevalencia de BLEE en Europa para *K. pneumoniae* es del 23% y 5% para *E.coli*.<sup>8</sup>

En España un estudio realizado en el año 2000 muestra una prevalencia en *K. pneumoniae* y *E. coli* de 3% y 0.5% respectivamente. La prevalencia de BLEE en Europa es más alta que en Estados Unidos pero más baja que en Asia y América del Sur.<sup>7</sup>

- Norteamérica

Los primeros informes sobre organismos productores de BLEE en Estados Unidos datan de 1988. En 1989, se informan casos de infecciones producidas por variantes SHV y CTX-M en Canadá y Estados Unidos.

La prevalencia de organismos productores de BLEE quizás ha estado subestimada en el pasado debido al punto de corte establecido para la resistencia a ceftazidima el cual fue definido como una Concentración Mínima Inhibitoria ( $CMI \geq 32 \mu\text{g/mL}$ ) o para cefotaxima ( $CMI \geq 64 \mu\text{g/mL}$ ), cuando muchos microorganismos productores de BLEE tienen CMI entre 2 y  $16 \mu\text{g/mL}$ .<sup>7,14</sup>

En estudios realizados en el periodo 1998-2002 sobre 6101 aislamientos de *K. pneumoniae* en Unidades de Cuidados Intensivos, se obtuvo un 6% de cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación. Mientras que en pacientes comunitarios, la tasa es 2% sobre 12,059 aislamientos de *K. pneumoniae* y 0.4% en *E. coli* sobre un total de 71,448 aislamientos.<sup>7</sup>

La prevalencia de BLEE entre los aislamientos de *K. pneumoniae* y *E. coli* se encuentran en un rango de 5-10% (*E. coli* 8% y *K. pneumoniae* 12%)<sup>8</sup>

- América Latina

Al parecer la primera BLEE reportada en Latinoamérica fue SHV-5 en 1987, en una cepa de *K. pneumoniae* en Chile, en el mismo año se describieron las enzimas SHV-2 y SHV-5 en Argentina producidas por esta cepa en una unidad de cuidados intensivos.

En 1989 también en Argentina se produjo un brote causado por *S. typhimurium* en donde murieron 80 niños por infecciones graves como bacteriemias y meningitis, este microorganismo era productor de una nueva BLEE, CTX-M-2. A principios de los 90s, otra nueva BLEE fue descubierta también en Argentina PER-2, frecuentemente detectada en cepas de *E. cloacae*.

En 1997 fue encontrada la CX-M-8 en Brasil en cepas de *Enterobacter spp.* y *Citrobacter amalonaticus* aisladas de pacientes hospitalizados en unidades de cuidados intensivos de Rio de Janeiro.

Nuevos tipos de BLEE se han reportado en esta región como la enzima TLA-1 encontrada por primera vez en México a finales de los 90s en un aislamiento de *E. coli*.<sup>8</sup>

La enzima GES-1 fue encontrada en un aislamiento de *K. pneumoniae* de una paciente pediátrica en la Guayana francesa, y BES-1 de un aislamiento de *S. marcescens* en un hospital de Rio de Janeiro. En Colombia en 2003 fue descrita CTX-M-12 producida por cepas de *K. pneumoniae*; y en 2005 en Uruguay fue identificada TEM-144 en un aislamiento de *S. enterica*.<sup>8</sup>

Las BLEE son un problema de salud pública con proporciones alarmantes de prevalencia en Latinoamérica que alcanza tasas preocupantes en Colombia, Guatemala, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile, Panamá y Brasil. La producción de BLEE en estos países mostró variaciones marcadas de un país a otro, con rangos entre un 5% a 73%.<sup>8</sup>

En la actualidad América Latina tiene la tasa más elevada del mundo (la prevalencia más alta en el mundo de aislamientos para *K. pneumoniae* portadora de BLEE con un 45-52% y para *E. coli* de un 9-18%.) existiendo variaciones dentro de los países que la forman, siendo los de mayor prevalencia Brasil y Chile, observándose un aumento de las infecciones producidas en la comunidad.<sup>7</sup>

En países como Brasil, Colombia y Venezuela existe una prevalencia de 30-60% para *K. pneumoniae* en unidades de cuidados intensivos.<sup>14</sup>

En un hospital de la ciudad de Corrientes en Argentina se aislaron 315 enterobacterias de pacientes hospitalizados. De las cuales se confirmó la producción de BLEE en 98 cepas (31%)<sup>17</sup>

Con el objetivo de determinar la prevalencia de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en hospitales de Hermosillo, Sonora, México, se analizaron 1 412 aislamientos obtenidos durante un año (2008-2009), obteniéndose 32% para *E. coli* y 35% para *K. pneumoniae* y una prevalencia comunitaria de 14% para *E. coli* y 0% para *K. pneumoniae*.<sup>18</sup>

En Colombia la prevalencia de BLEE se encuentra por encima del 40%. Adicionalmente estudios realizados en la costa atlántica colombiana han mostrado prevalencias del 38% en *Enterobacteriaceae*. En la zona andina colombiana se han encontrado prevalencias más bajas entre un 10-13% para *E. coli* y del 30% para *K. pneumoniae*. En el Pacífico occidental la prevalencia de BLEE es del 28% para *K. pneumoniae* y 14% para *E. coli*.<sup>8</sup>

- Asia

En 1988 en China son informados aislamientos de *K. pneumoniae* portadora de SHV-2 y SHV-5. Recientes estudios realizados en China revelan tasas de producción de BLEE de un 16% en *E. coli* y un 17% en *K. pneumoniae*, siendo las BLEE más predominantes el tipo CTX-M. Asia se considera el mayor reservorio de genes bla CTX-M del mundo.<sup>7</sup>

En 1998 y 1999 el 31% correspondió a *K. pneumoniae* y 24% para *E. coli*. En un hospital de Beijing se obtuvo un 34% de BLEE por *E. coli* y 38% para *K. pneumoniae*; en Malasia, Corea, Japón y Singapur el porcentaje de BLEE fue del 5-8% mientras que en Tailandia, Taiwán y Filipinas fue de 12-24%.<sup>14</sup>

- África y el medio Este

Se han informado varios brotes de infecciones por organismos portadores de BLEE en África del Sur, pero no se han publicado estudios nacionales. No obstante, en 1998 y 1999 se informó una tasa de 36% de aislamientos de *K. pneumoniae* portadora de BLEE en un único hospital. También han sido informados aislamientos en Arabia Saudita, Israel y otros países del medio este.<sup>7,14</sup>

- Australia

El primer informe sobre BLEE en Australia fue en una cepa de *K. pneumoniae* resistente a gentamicina. El 5% de los aislamientos de *K. pneumoniae* en hospitales australianos son portadores de BLEE.<sup>7</sup>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El incremento de la resistencia bacteriana a nivel internacional y la mayor frecuencia en la aparición de cepas multirresistentes convierten a este fenómeno en uno de los mayores retos para las unidades asistenciales de salud pública. Las infecciones causadas por microorganismos multirresistentes, se asocian a fracaso de los regímenes terapéuticos con mayores índices de mortalidad, estadía hospitalaria y mayores costos.

Se ha documentado un incremento en la prevalencia de cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas con cifras que van del 4 al 80%, lo que habla de una gran diversidad, además de que la mayoría de los estudios se han llevado a cabo a nivel hospitalario. La aplicación de medidas epidemiológicas solo puede ser efectiva si se tiene una recolección metódica de los resultados obtenidos por el laboratorio de Microbiología con su análisis correspondiente, el diseño y aplicación de investigaciones en las que se ven envueltos todos los servicios médicos diagnósticos. Aunado a esto, los reportes de cepas productoras de BLEE en nuestro país son de pacientes hospitalizados.

Los pacientes ambulatorios pueden ser considerados portadores, por lo que pueden transmitir las cepas multirresistentes a sujetos clínicamente sanos, debidas a ello es importante conocer la prevalencia de estos microorganismos en esta población.

A los laboratorios de referencia llegan muestras de pacientes ambulatorios de diferentes partes, tanto de la ciudad como del interior de la república, lo que permite la generalización de los resultados a la población mexicana.

De acuerdo a la información anterior se plantean las siguientes preguntas de investigación:

- ¿Cuál es la prevalencia de microorganismos productores de  $\beta$ -lactamasas en una muestra de pacientes ambulatorios de un laboratorio de referencia?
- ¿Existe diferencia debida a género y edad en la prevalencia de microorganismos productores de  $\beta$ -lactamasas en población ambulatoria?

## **OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la prevalencia de cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en población ambulatoria de un laboratorio de referencia.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Establecer si existe diferencia en la prevalencia de cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en función de la edad o el género.
- Asociar la presencia de cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido con el tipo de muestra clínica del paciente.

## **HIPÓTESIS**

La resistencia antimicrobiana es uno de los principales problemas de salud pública en todo el mundo, y se está incrementando ahora en los países en desarrollo. Una de las principales causas es el desarrollo de mecanismos protectores en las bacterias como la producción de  $\beta$ -lactamasas, debida al mal uso de los antimicrobianos, principalmente en mujeres que acostumbran automedicarse. La población en general tiende a utilizar indiscriminadamente los antimicrobianos, pudiendo provocar resistencia bacteriana, de ahí que la prevalencia de BLEE en este grupo de pacientes puede oscilar entre el 10 y 20%, siendo las muestras de orina de mujeres las principalmente portadoras.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

- Tipo de estudio: observacional, descriptivo, prolectivo, transversal
- Población de estudio: Muestras clínicas positivas de urocultivos y exudados de cualquier fuente, recibidas en el área de Microbiología del Laboratorio de Referencia Carpermor
- Variables:
  - Cepas bacterianas productoras de BLEE
  - Microorganismo aislado
  - Muestra clínica
  - Edad
  - Sexo

### OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	NIVEL DE MEDICIÓN	CATEGORIA
Cepa productora de BLEE	Bacterias que producen enzimas que inactivan a los $\beta$ -lactámicos	Cualitativa nominal	Positiva Negativa
Microorganismo aislado	Bacteria aislada de una muestra clínica.	Cualitativa nominal	Nombre de la bacteria
Muestra clínica	Cualquier líquido biológico proveniente de un paciente.	Cualitativa nominal	Nombre de la muestra
Edad	Años cumplidos al momento de la toma de muestra	Cuantitativa discreta	Años cumplidos
Sexo	Características fenotípicas del individuo	Cualitativa nominal	Masculino Femenino

## PROCEDIMIENTO:

Dependiendo del tipo de muestra será el procedimiento a realizar.

### Urocultivo

1. Recepción de las muestras para urocultivo
2. Rotular la muestra
3. Centrifugar muestras a 1800 rpm por 5 minutos.
4. Decantar y observar el sedimento al microscopio.
5. Si es positivo (si se observan estructuras sugerentes de infección, como leucocitos, bacterias) sembrar en un medio cromogénico para identificar el tipo de bacteria (CHROMagar orientador) según el color.
6. Identificar el microorganismo aislado según el color de las colonias y pruebas adicionales.

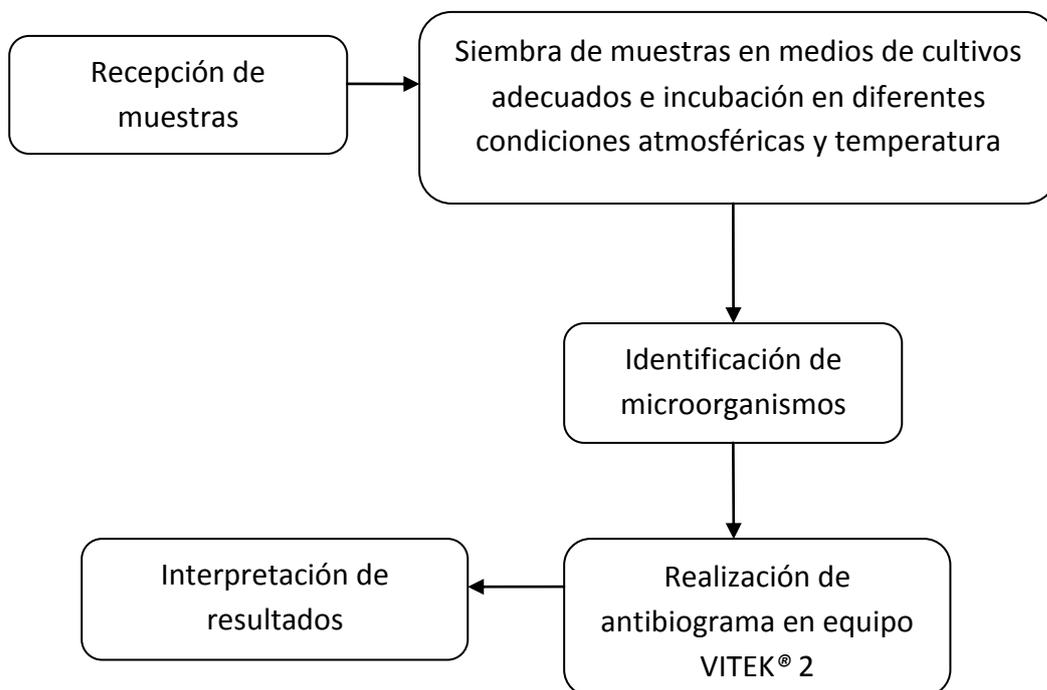
Microorganismo aislado	Color de la colonias
<i>E. coli</i>	De rosa a burdeos
<i>K. pneumoniae</i>	Verde azulado a gris azulado
<i>P. mirabilis</i>	Color beige con halo marrón
<i>E. cloacae</i>	De verde azulado a gris azulado
<i>E. faecalis</i>	Turquesa
<i>S. agalactiae</i>	Violeta azulado a violeta
<i>S. saprophyticus</i>	Opacas rosa pálido

7. Realizar el antibiograma
8. Preparar suspensión bacteriana con una densidad equivalente a un patrón McFarland apropiado utilizando un nefelómetro, el VITEK® 2 DensiCHEK™ Plus
9. Elegir colonias aisladas de la placa del medio cromogénico, preparando el inóculo a partir de un cultivo puro.
10. Utilizar una asa bacteriológica estéril o un hisopo para transferir una cantidad suficiente de colonias morfológicamente similares a un tubo con 3 ml de solución salina estéril (NaCl al 0.45% con un pH de 4-7)
11. Patrón MacFarland para organismos Gram negativos y Gram positivos (0.5-0.63)
12. Se coloca el tubo de suspensión preparado en un casete con o sin una tarjeta de identificación. En la posición siguiente del casete, se coloca un tubo vacío y una tarjeta AST (Test de susceptibilidad antimicrobiana) que contiene los antimicrobianos. El instrumento VITEK® 2 realiza automáticamente la dilución de la suspensión bacteriana para obtener un inóculo adecuado para la tarjeta de sensibilidad.
13. A continuación la tarjeta se inocula, se sella y se coloca en el incubador /lector del instrumento automáticamente.
14. El equipo determinan los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) para cada antimicrobiano.
15. Interpretación de resultados.

## Exudados diversos

1. Recepción de muestras para exudados diversos
2. Rotulación de la muestra
3. Realizar una tinción de Gram para identificar bacterias y leucocitos.
4. Realizar el cultivo
5. Inocular la muestra y estriar en forma cruzada para lograr el aislamiento de los microorganismos en 4 medios (Agar Sangre, Agar Chocolate, Agar Mac Conkey, Agar Saboraud), Caldo tioglicolato en caso de búsqueda de anaerobios.
6. En caso de heridas profundas y abscesos en jeringa, realizar búsqueda de anaerobios
7. Incubar las placas de 35-37° C por 24 h, la placa de chocolate en una atmosfera de CO<sub>2</sub> y el resto en ambiente aeróbico.
8. Hacer la primera lectura a las 24 h, si no hay desarrollo microbiano colocar nuevamente los medios en las incubadoras correspondientes.
9. Si hay desarrollo microbiano, seleccionar las colonias de los posibles patógenos para su identificación y antibiograma.

### Diagrama de flujo



## **Principio del procedimiento**

La tarjeta AST para Vitek 2 Systems representa una metodología de test automatizado basado en la técnica de la concentración mínima inhibitoria (CMI) descrita por MacLowry y Marsh<sup>19</sup> y Gerlach.<sup>20</sup> La tarjeta AST es básicamente una versión miniaturizada y abreviada de la técnica de dilución doble para las CMI determinadas mediante el método de microdilución.<sup>20</sup> Cada tarjeta contiene 64 micropocillos.

Un pocillo control, que contiene solo medio de cultivo microbiológico, se encuentra presente en todas las tarjetas, mientras que los pocillos restantes contienen concentraciones de un antimicrobiano específico combinado con el medio de cultivo. Es preciso que la suspensión del organismo esté diluida a una concentración normalizada en solución salina al 0.45% ante de utilizarse para rehidratar el medio antimicrobiano en la tarjeta.

A continuación la tarjeta se inocula, se sella y se coloca en el incubador/lector del instrumento automáticamente. Dicho instrumento controla el crecimiento de cada pocillo de la tarjeta durante un periodo de tiempo determinado (24h) para las bacterias. Al final del ciclo de incubación, se determinan los valores de la CMI para cada antimicrobiano contenido en la tarjeta.<sup>21</sup>

## **$\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE)**

Se basa en el principio de una respuesta diferencial entre el efecto inhibitorio de cefalosporinas de 2<sup>a</sup> y 3<sup>a</sup> generación en la presencia ó ausencia de un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas (ácido clavulánico). Existe un test de confirmación para aquellos BLEE inhibidos por el ácido clavulánico utilizando cefepima, cefotaxima, y ceftazidima con y sin ácido clavulánico para determinar un resultado positivo o negativo.

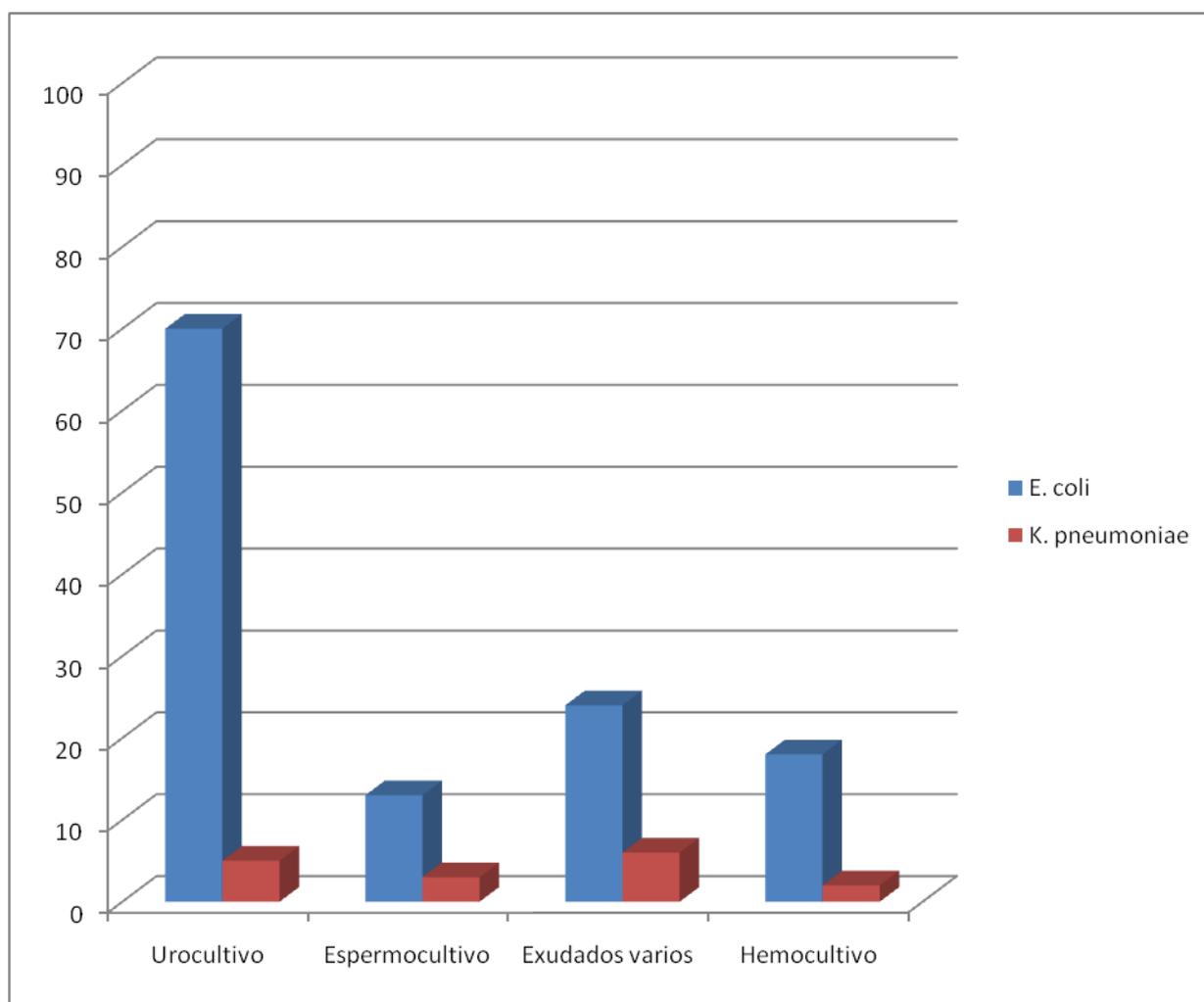
Según la guía del *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) en el caso de todas las cepas productoras de BLEE confirmadas, la interpretación de los test debe comunicarse como resistente para todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam.<sup>22</sup>

## **Análisis estadístico:**

Como análisis descriptivo se utilizaron frecuencias y porcentajes y como prueba comparativa la  $\chi^2$  para comparación de proporciones. Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo.

## RESULTADOS

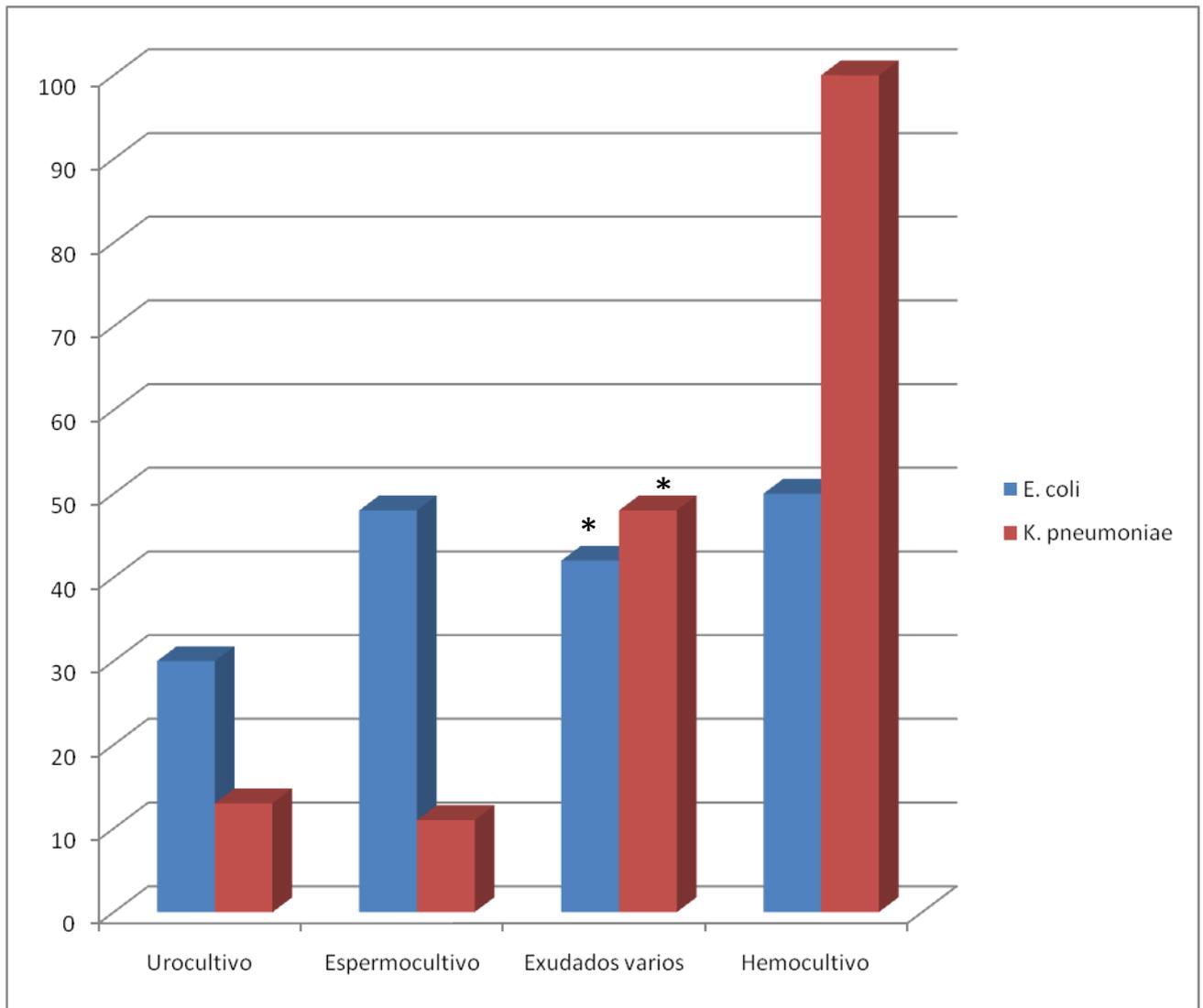
De un total de 42180 muestras procesadas entre el 1 de enero y el 30 de junio del 2012 en el laboratorio de microbiología de Carpermor, se obtuvieron 11373 (27%) aislamientos positivos, provenientes de 38508 urocultivos, 2010 espermocultivos, 1182 exudados diversos y 480 hemocultivos. Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron *E. coli* y *K. pneumoniae* en todos los tipos de muestras, encontrando el 70% y 24% de *E. coli*, y 6% y 5% de *K. pneumoniae* en urocultivos y exudados diversos, respectivamente (Figura 9).



**Figura 9.** Porcentaje de aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* en muestras positivas.

Del total de aislamientos positivos para *E. coli* y *K. pneumoniae* se observó que en los exudados diversos más del 40% de ambas cepas son BLEE positivas (BLEE+) y para hemocultivos el 50% de aislamientos de *E. coli* es BLEE positivos y la única *K. pneumoniae* aislada también lo es. Así mismo se encontró que el 48% fueron *E. coli* productores de BLEE

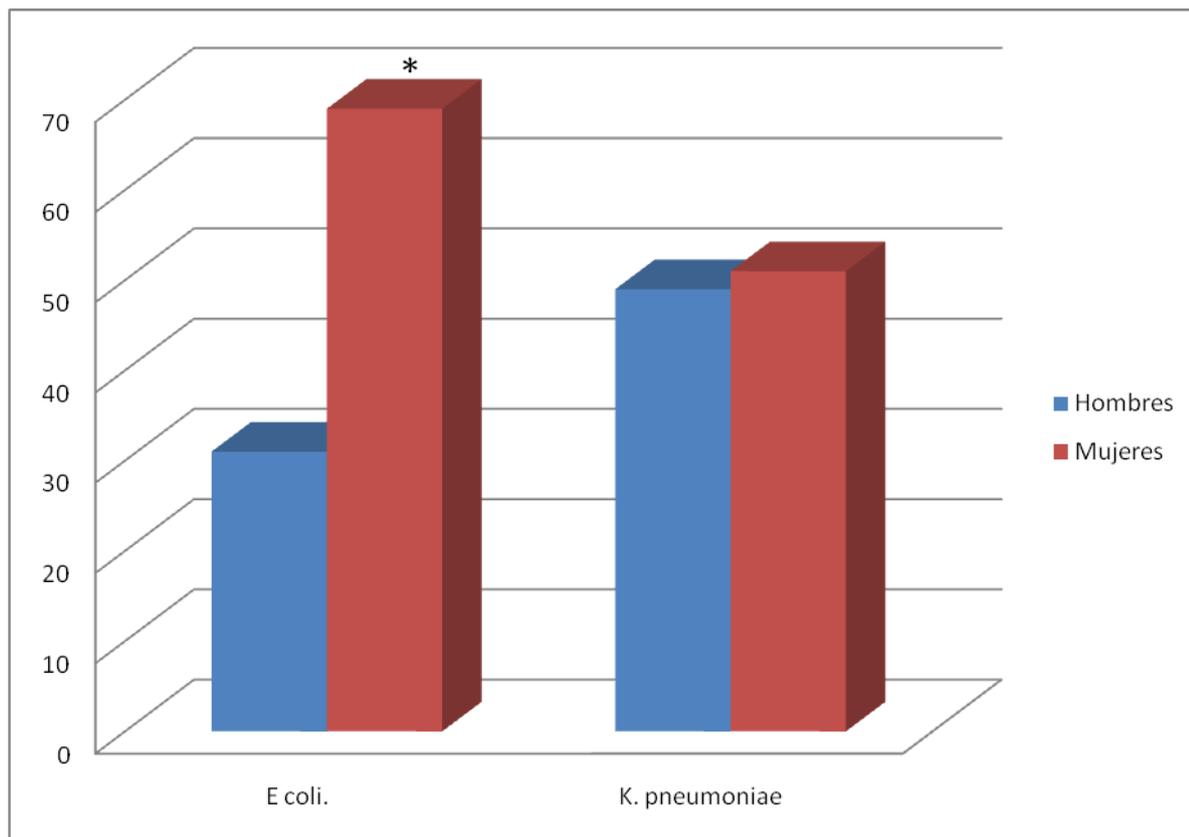
en muestras de espermocultivos y 48% de *K. pneumoniae* BLEE+ en aislamientos de exudados diversos (Figura 10).



**Figura 10.** Porcentaje de BLEE + para *E. coli* y *K. pneumoniae* por tipo de muestra.

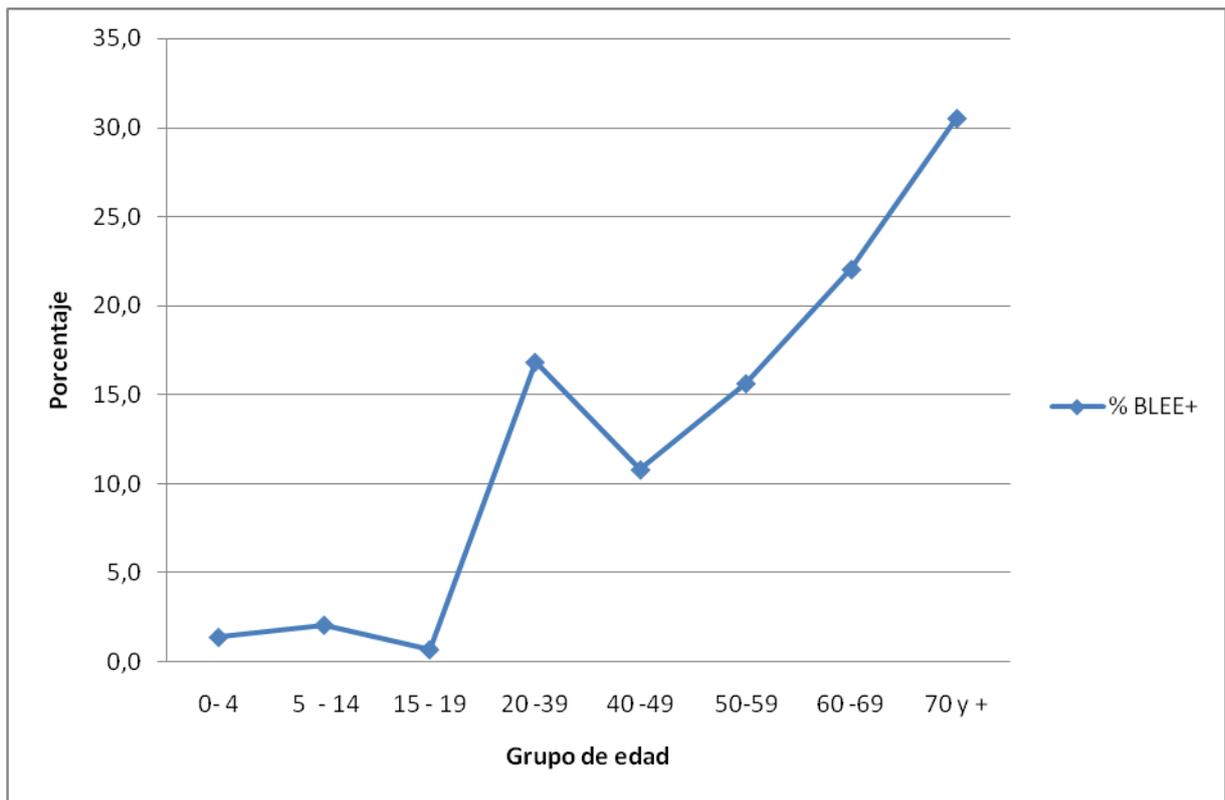
\*Urocultivo vs. Exudados diversos,  $\chi^2$   $p < 0.0001$ .

Estratificando las cepas BLEE + por sexo, se observó que *E. coli* es más frecuente en mujeres que en hombres y *K. pneumoniae* se presenta casi con la misma frecuencia en ambos sexos. Del total de cepas aisladas, el 31% de *E. coli* y el 49% de *K. pneumoniae* se aislaron de varones. Mientras que el 69% de *E. coli* productora de BLEE y el 51% de *K. pneumoniae* se aislaron de mujeres (Figura 11).

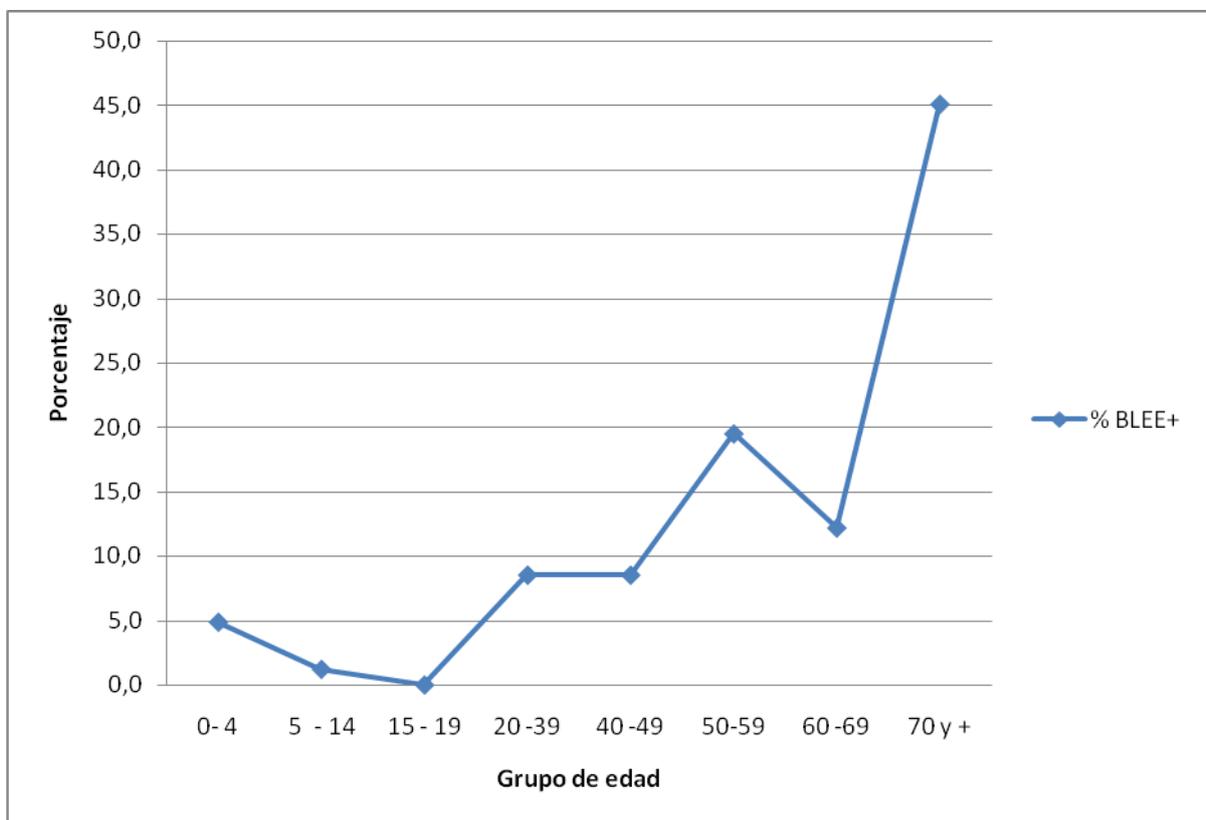


**Figura 11.** Porcentaje de aislamientos BLEE+ por microorganismo y sexo.\* $\chi^2$  p < 0.01 *E. coli* vs. *K. pneumoniae*.

El rango de edad de los pacientes fue de 0 –104 años. El 31% de *E. coli* y el 45% de *K. pneumoniae* productoras de BLEE se aislaron de pacientes mayores de 70 años. La prevalencia de aislamientos de cepas BLEE+ de ambas cepas se incrementa conforme aumenta la edad, notándose un aumento paulatino en el caso de *E. coli* (Figura 12) y un mantenimiento entre 10 y 20% para *K. pneumoniae* que se incrementa después de los 70 años (Figura 13).

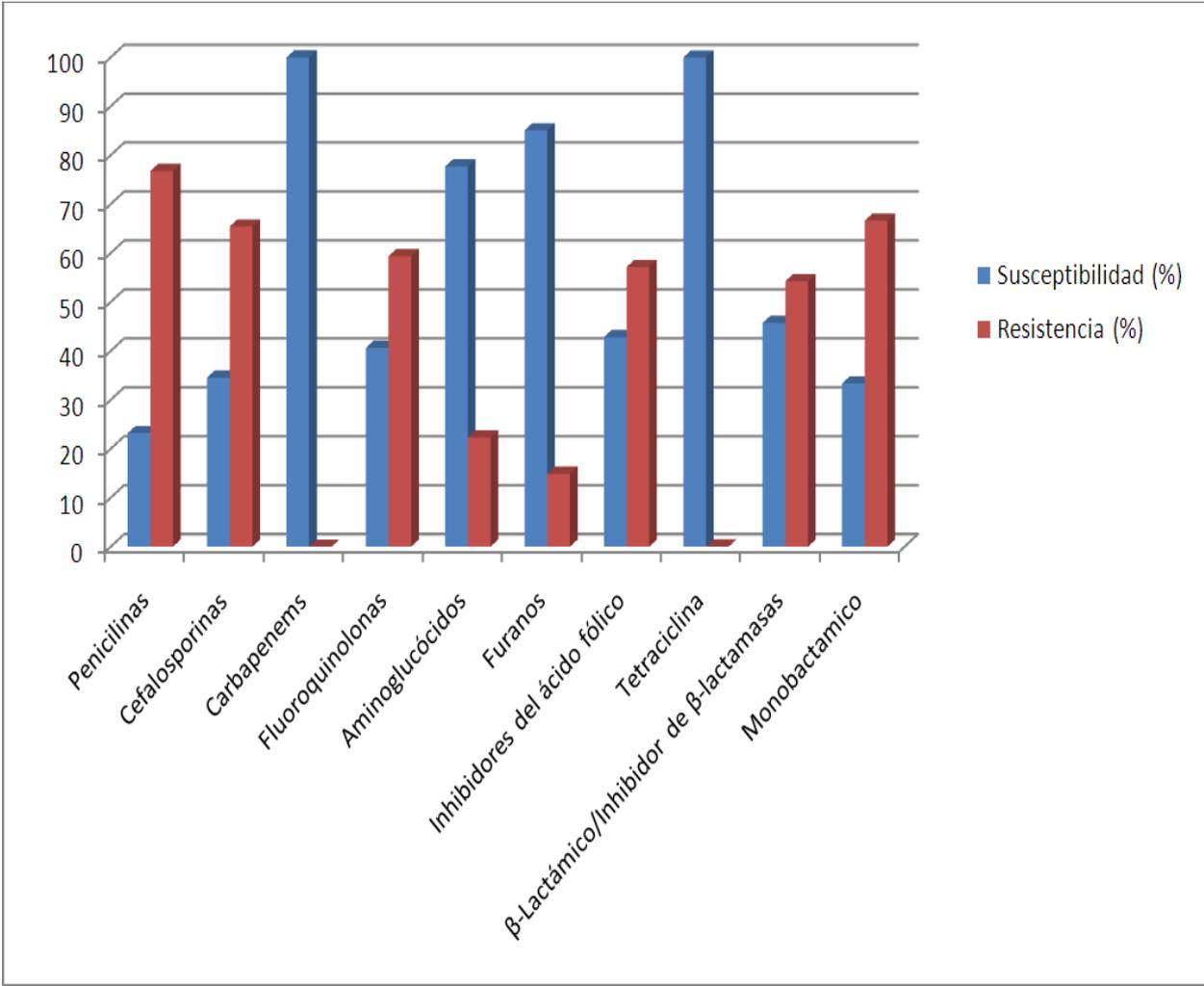


**Figura 12.** BLEE+ para *E. coli* por grupo de edad.



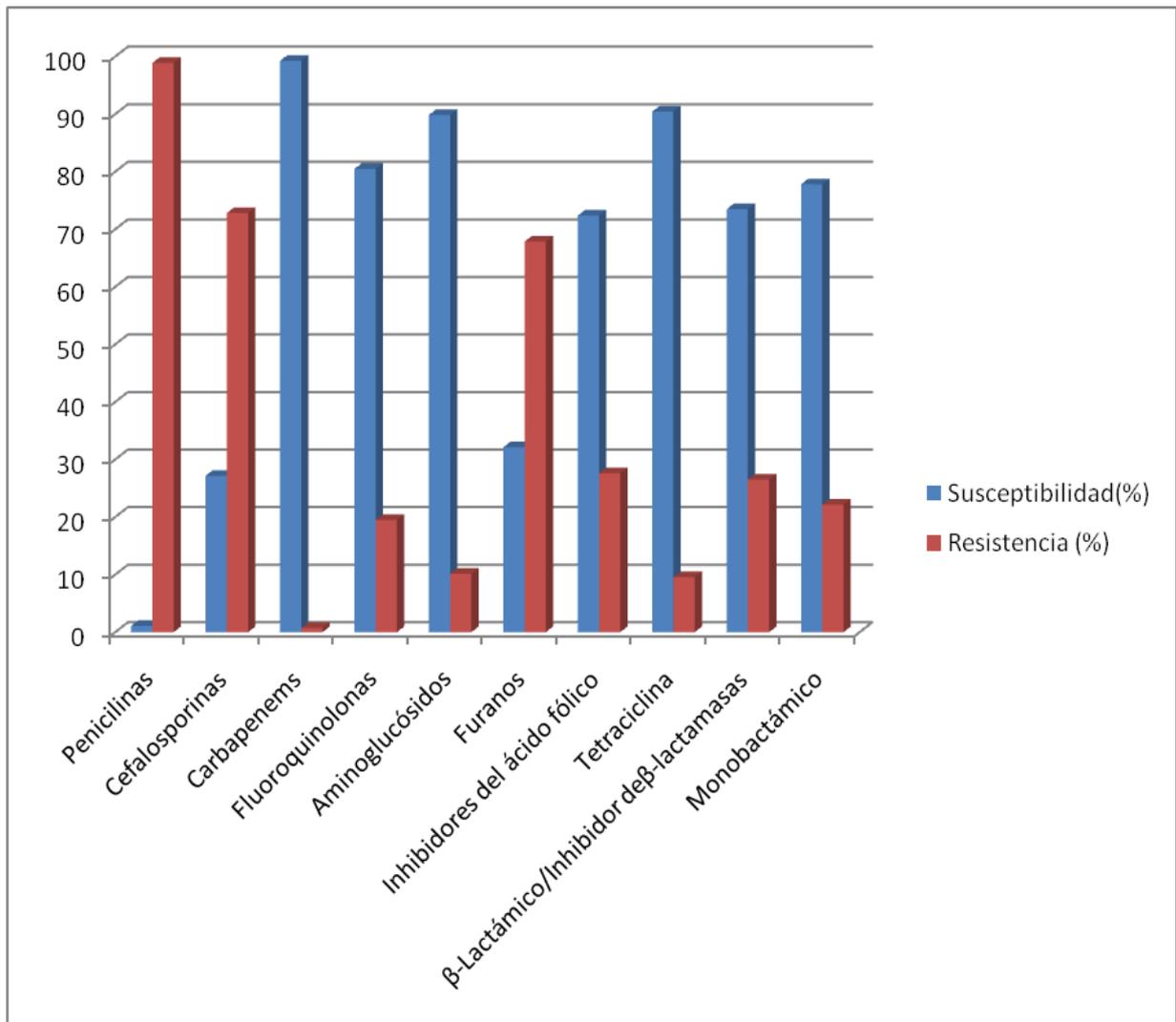
**Figura 13.** BLEE+ para *K. pneumoniae* por grupo de edad.

En cuanto al comportamiento frente a los antimicrobianos para *E. coli* productora de BLEE se encontró una resistencia del 60% a las quinolonas, 57% a trimetoprima/sulfametoxazol y 54% a la combinación de  $\beta$  lactámico/inhibidor de  $\beta$ - lactamasas, 77% a penicilinas, 65% a cefalosporinas, 66% a aztreonam. En cuanto a la susceptibilidad se observó que un 99% lo era a los carbapenems y a tetraciclinas, 85% a nitrofurantoína, 78% a aminoglucósidos, como los más importantes (Figura 14).



**Figura 14.** Comportamiento antimicrobiano de *E. coli* BLEE+.

Con respecto a la resistencia a los antimicrobianos para *K. pneumoniae* productora de BLEE se encontró en este estudio entre lo más destacable que existe una resistencia del 99% a la penicilina, el 68% a nitofurantoína, 73% a cefalosporinas, 20% a quinolonas, 28% a trimetoprima/sulfametoxazol, 27% a la combinación de  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas. En cuanto a la susceptibilidad se observó un 99% a carbapenems, 80% a quinolonas, 90% a aminoglucósidos y tetraciclina, 72% a trimetoprima/sulfametoxazol y 73% a la combinación de  $\beta$  lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas (Figura 15).



**Figura 15.** Comportamiento antimicrobiano de *K. pneumoniae* BLEE +.

## DISCUSIÓN

### Prevalencia de BLEE

La aparición de BLEE ha constituido uno de los principales problemas de resistencia a los antimicrobianos más importantes de los últimos años.

*K. pneumoniae* es el microorganismo que con más frecuencia se ha venido describiendo las BLEE. En menor medida también se ha descrito producción de BLEE en *E. coli* y otras enterobacterias. En la mayoría de los estudios los organismos productores de BLEE se han aislado de hospitales, y dentro de éstos en unidades de cuidados intensivos;<sup>23</sup> ello probablemente relacionado con el hecho que esta especie forma parte de la biota normal, sobrevive durante bastante tiempo sobre la piel (manos) y los fómites, facilitando infecciones cruzadas en hospitales además que adquiere con cierta facilidad plásmidos conjugativos.<sup>14, 23</sup>

Por otro lado, existen pocos datos en la literatura sobre prevalencia de *E. coli* productora de BLEE en Unidades de Cuidados Intensivos.<sup>23</sup>

En este estudio la bacteria más prevalente fue *E. coli*, aislada principalmente de urocultivos (17%) seguida de exudados diversos (16%). En este sentido, la mayoría de los pacientes con infecciones bacterianas adquiridas en la comunidad son tratados empíricamente; por lo que, cuando se utilizan los protocolos de tratamiento diseñados para estos fines, deben de tomarse en cuenta las prevalencias de organismos productores de BLEE.

Es importante resaltar que las tasas de prevalencia de BLEE+ varían de un país a otro y de región en región. Además que en algunas instituciones de salud no se realiza la prueba para su identificación de forma rutinaria<sup>5</sup>, y que desde un punto de vista epidemiológico, su principal reservorio es el tracto digestivo y su transmisión es fácil a partir de las manos de las personas.<sup>13</sup>

Al respecto se han considerado un problema grave las infecciones adquiridas en la comunidad por patógenos productores de BLEE que comúnmente causan diarrea (*Salmonella spp.*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, *Vibrio cholerae*) aislados de heces de niños en un hospital de Argelia.<sup>14</sup> Así mismo, en Barcelona España se encontraron en dos periodos de estudio un 2% y un 4%, respectivamente, de prevalencia de enterobacterias BLEE+ a partir de materia fecal humana de origen comunitario.<sup>24</sup>

Uno de los aportes de este estudio es el aislamiento e identificación de cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE+ en sujetos de la comunidad, es decir, personas que no se encuentran hospitalizadas y, por lo tanto, pueden ser portadoras. Encontramos que del total de aislamientos positivos en exudados diversos, más del 40% de *E. coli* y *K. pneumoniae* son BLEE+; y de los urocultivos el 30% fue *E. coli* y el 13% *K. pneumoniae*. Al respecto se tienen reportes que informan que en Europa los productores de BLEE son causantes frecuentes de infecciones en vías urinarias, sangre, respiratorias, piel y tejido blando; en Canadá los aislamientos de infecciones urinarias hospitalarias son *E. coli* y *K. pneumoniae*

productoras de BLEE. Por otro lado, se reporta que la prevalencia de BLEE en Europa es más alta que en E.U.A pero más baja que en Asia y América Latina<sup>7, 24, 25</sup>. En este sentido, del año 95-96 se realizó un estudio para determinar la prevalencia de BLEE en un centro médico de tercer nivel de pacientes ubicados en todo el hospital, incluyendo consultas externas el productor de BLEE más frecuentemente aislado fue *K. pneumoniae*, en el 52% de los pacientes.<sup>14</sup>

La mayoría de los informes mexicanos hablan de productores de BLEE de origen hospitalario, informando que *K.pneumoniae* es la enterobacteria productora de BLEE con mayor frecuencia de aislamientos, siendo sólo el 15% para *E.coli*.<sup>18</sup> En nuestro país la elevada frecuencia de origen intrahospitalario va de 50-60% predominando *K. pneumoniae*.<sup>25</sup>

Por otro lado, en un estudio realizado en un hospital infantil de Sonora durante octubre de 2002 a abril del 2003, se reportó una prevalencia del 5% muy por debajo de lo reportado para México en 1999 en cepas de *K. pneumoniae* por la red de Vigilancia de resistencia antimicrobiana la cual aumentó hasta el 50% en el 2011. El programa SENTRY (Antimicrobial Surveillance Program) de vigilancia global de la resistencia a los antimicrobianos, reporta una prevalencia del 45% en cepas de *K. pneumoniae* en América Latina en el 2004.<sup>24</sup>

Con relación a los estudios llevados a cabo en pacientes ambulatorios, en un estudio llevado a cabo en 13 hospitales de España en el 2003, el 25% resultó ser productores de BLEE de origen comunitario (66% *E. coli* y 20% *K. pneumoniae*).<sup>13</sup> En nuestro país se reportan aislamientos positivos con un 86% para *E. coli* y 16% para *K. pneumoniae*; de los cuales el 32 % para *E. coli* y 35% para *K. pneumoniae* productores de BLEE son intrahospitalarios, mientras que el 14% de *E. coli* y 0% de *K. pneumoniae* productores de BLEE son de origen comunitario aislados principalmente de infecciones urinarias comunitarias (0-65%), hospitalarias (0-50%), seguido de sangre (0-26%) piel y tejido blando (8-17%), éstas últimas de origen hospitalario<sup>18</sup>, porcentajes por debajo de lo observado en nuestro estudio.

Diferentes estudios han reportado porcentajes semejantes a los encontrados en este trabajo. El sistema de vigilancia SENTRY en el año 2000 informó una prevalencia de 45 y 8.5% en América Latina, para *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE respectivamente,<sup>8,18</sup> y la prevalencia de BLEE en América Latina ha sido informada del 20-48%, encontrándose *E. coli* productora de BLEE en un 19% y *K. pneumoniae* 16%.<sup>17,25</sup>

Por otro lado, en el 2005 en un estudio en Argentina sobre productores de BLEE, el 95% fue de infecciones intrahospitalarias y el 4% fueron infecciones en pacientes ambulatorios con tratamiento prolongado de antibióticos y sondas urinarias permanentes; de éstos la prevalencia de organismos productores de BLEE fue de 31%, con un 40% de *Proteus spp*, siendo el microorganismo más prevalente en este estudio. De 1993-2002 la prevalencia de *K. pneumoniae* productora de BLEE reportada en pacientes con bacteriemia del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán fue del 14% que pudo deberse a la propagación de la cepa en ese hospital confirmando una amplia difusión en hospitales mexicanos.<sup>13</sup>

## Tipo de muestra

Aunque la mayoría de los informes señalan a las muestras de orina como la fuente más frecuente para el cultivo de cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, en este estudio no fue la más prevalente; sin embargo se encontró un 30 % para *E. coli* y 13% para *K. pneumoniae* la cual es alta no reportada en pacientes ambulatorios.

En este estudio el 48% fueron *E. coli* productoras de BLEE en muestras de espermocultivos y 48% *K. pneumoniae* productoras de BLEE en aislamientos de exudados diversos. Es posible que la prevalencia encontrada en este tipo de muestras puede deberse a infecciones de vías urinarias recurrentes como factor de riesgo para adquirir un organismo productor de BLEE en caso de los espermocultivos;<sup>17, 26</sup> y en el caso de la alta prevalencia en muestras provenientes de exudados diversos probablemente puede tratarse de infecciones en las que la actividad del fármaco puede ser pobre (absceso, infección intra-abdominal) en las cuales la etiología suele ser mixta (bacterias aerobias y anaerobias); además que muchas de estas infecciones pudieron ser adquiridas en el transcurso de una estancia hospitalaria y/o tratadas empíricamente con antibióticos de amplio espectro sin realización de antibiograma, considerándose todo esto como factor de riesgo para adquirir una infección por productores de BLEE.<sup>13,14, 26,27</sup>

Existen informes que hablan de fracaso terapéutico en este tipo de infecciones, de ahí que 4 de cada 6 pacientes reciben tratamiento empírico inadecuado y su sepsis no es controlada hasta que el tratamiento es cambiado. Al respecto se recomienda un tratamiento inicial con la combinación de  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas efectivo en 3 de cada 4 pacientes; aunque se considera el tratamiento de elección a los carbapenems dependiendo del resultado del antibiograma.<sup>26</sup>

La causa de este repentino aumento de infección adquirida en la comunidad por productores de BLEE todavía no es clara pero se ha asociado al consumo de animales en los cuales se utilizan antimicrobianos para su crecimiento, consumo de antimicrobianos y el contacto con el paciente en los establecimientos de salud. Por lo que necesitan ser explorados.<sup>14</sup>

Así mismo, debe tomarse en cuenta que existen métodos de propagación de BLEE dentro de los hospitales que deben de vigilarse. En un estudio realizado para conocer este tipo de contaminación dentro de los hospitales se aislaron productores de BLEE de broncoscopios, gel para ecografía, mangos de presión arterial, termómetros de vidrio (para medición axilar), jabón, pilas de desagüe, y el más importante, el transporte transitorio en las manos de los trabajadores de salud, ya que esto facilita el transmisión de paciente a paciente; además de la colonización del tracto gastrointestinal por productores de BLEE en trabajadores de salud.<sup>14</sup>

## Edad y Sexo

Del total de cepas aisladas, el 31% de *E. coli* y el 49% de *K. pneumoniae* lo fueron de varones; mientras que el 69% de *E. coli* productora de BLEE y el 51% de *K. pneumoniae* se aislaron de mujeres. El rango de edad de los pacientes fue de 0- 104 años. El 31% de *E. coli* y el 45% de *K. pneumoniae* productora de BLEE se aislaron de pacientes mayores de 70 años. Al respecto, en un estudio para conocer los factores de riesgo asociados a infecciones por

productores de BLEE en pacientes no hospitalizados, el 23% fue para personas del sexo masculino mientras que el 77% eran del sexo femenino con un rango de edad de (1-92 años) y una media de edad de 62 años; sin embargo el grupo de productores de BLEE en pacientes del sexo masculino tuvo una diferencia significativa ( $p < 0.0001$ ) y la edad resultó ser un factor de riesgo importante en pacientes mayores de 60 años. La razón principal de este efecto puede ser de género ya que en los hombres con edad avanzada desarrollan más fácilmente y con mayor frecuencia infecciones de vías urinarias complicadas.<sup>5</sup> En otro estudio realizado en España sobre epidemiología y características clínicas en infecciones causadas por *E. coli* en pacientes ambulatorios, el 57% fueron del sexo femenino mientras que el 43% fue para el sexo masculino, con un rango de edad de 15-92 años con una media de 70 años.<sup>26</sup> Así mismo, en un estudio realizado para conocer el perfil fenotípico de susceptibilidad a diferentes antimicrobianos en cepas de *E. coli* aisladas en urocultivos recolectados en el hospital Rosario Pumarejo de López en el 2011 en la ciudad de Valledupar Colombia las cepas de *E. coli* productoras de BLEE se encontraron con mayor frecuencia en pacientes del sexo masculino (54%) con edades oscilantes entre los 54-90 años. Es bien sabido que aunque en los hombres las infecciones del tracto urinario (ITU) son raras, en estos pacientes los episodios de infecciones de las vías urinarias aumentan su frecuencia después de los 50 años, probablemente relacionados a la patología prostática y a la pérdida de actividad bactericida de las secreciones prostáticas.<sup>28</sup>

Estos datos son concordantes con lo que nosotros encontramos, pudiéndose resaltar que la prevalencia de ambas cepas estudiadas en sus variantes BLEE+ fue más del 50% en mujeres, y no así en los hombres, lo que nos daría la pauta para investigar más a fondo posibles factores causales para que las mujeres sean portadoras de este tipo de cepas.

De igual forma en otro estudio sobre la etiología de la infección urinaria de adquisición comunitaria realizado en Uruguay en el 2009 la mayoría de los pacientes que consultaron fueron de sexo femenino. La edad media de presentación de los hombres fue mayor que la de las mujeres, coincidiendo en los hombres con el segundo pico de incidencia de infecciones urinarias asociado a la patología prostática, siendo *E. coli* el agente más frecuentemente aislado en pacientes de ambos sexos aunque en el sexo masculino su frecuencia relativa fue menor.<sup>29</sup>

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son junto con las respiratorias, los procesos infecciosos de mayor incidencia en patología humana. Las mujeres jóvenes son especialmente propensas al desarrollo de estas infecciones. La mayor parte de urocultivos positivos para *E. coli* en las instituciones hospitalarias, provienen de consulta externa; esto, es debido a la mayor afluencia de pacientes de origen comunitario, debido a la alta demanda de consultas ambulatorias por infecciones del tracto urinario (ITU) indebidamente tratadas con tratamientos empíricos. Las infecciones del tracto urinario afectan sobre todo a las mujeres, debido a que éstas tienen una mayor cantidad de factores predisponentes, en especial la uretra más corta. La actividad sexual, el uso de diafragma, cualquier modificación de la flora vaginal habitual o el embarazo producen alteraciones anatómicas y hormonales que favorecen el desarrollo de infecciones del tracto urinario.<sup>28</sup>

En el presente trabajo *E. coli* fue aislada en mayor cantidad en el sexo femenino (59%) con edades entre 19 a 37 años. La mayor prevalencia de *E. coli* en mujeres era de esperarse y reconfirma lo referenciado por la literatura. Nuestros resultados concuerdan con lo reportado por otros investigadores quienes documentan una mayor prevalencia de infecciones urinarias para al sexo femenino<sup>28</sup>

De igual manera *E. coli* es el uropatógeno más frecuentemente aislado, debido a la cercanía anatómica del recto, siendo la flora bacteriana fecal la principal fuente de las cepas que colonizan el introito vaginal, la uretra y causan infección en la vejiga. Su elevada prevalencia está dada por la capacidad de adherencia a receptores específicos en células uroepiteliales, a través de fimbrias de superficie y a su movilidad, que facilita su ascenso por la uretra.<sup>28</sup>

Otro estudio sobre enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido en pacientes críticos de la maternidad de Caracas Venezuela en el 2006 reporta una alta prevalencia en mujeres en donde pudiera haber ejercido una presión selectiva en la población bacteriana intrahospitalaria, por el uso de cefalosporinas de segunda y tercera generación, favoreciendo el incremento de cepas resistentes.<sup>30</sup>

Con relación a la edad, encontramos que la prevalencia se incrementa después de los 60 años, en este sentido, existe evidencia de que las residencias de ancianos (asilos) pueden servir como una puerta de entrada para infecciones producidas por organismos productores de BLEE.<sup>14</sup> Al respecto, en un estudio de prevalencia en Chicago encontraron que el 46% de los residentes de asilos estaban colonizados por *E. coli* productora de BLEE. Una característica fue que éstos habían estado en recurrente hospitalización y con uso de antimicrobianos frecuentes, regresando al asilo con el transporte de BLEE.<sup>14, 26</sup> Con esto se puede afirmar que los residentes de asilos son propensos a adquirir BLEE con la exposición a la flora microbiana de los otros residentes, especialmente si son incontinentes, y requieren contacto frecuente con proveedores de servicios de salud (enfermeros). Ha sido bien documentado que el lavado de manos entre el personal de asilos de ancianos es muy bajo, siendo ésta la posible razón de la propagación de las infecciones.

En otro estudio llevado a cabo en Canadá se informa que *E. coli* productora de BLEE se aísla en mayores de 65 años<sup>14</sup> y en un estudio sobre prevalencia de genes de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos en enterobacterias productoras de BLEE, la edad de los pacientes en donde se aislaron genes de resistencia fue de 18 y 74 con un prevalencia de 73% para el sexo masculino mientras que para el sexo femenino fue de 25%.<sup>31</sup> Por otro lado, en una investigación realizada en el año 2000 por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica sobre la prevalencia real de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, encontraron que del total de cepas aisladas, el 46% de *E. coli* y el 66% de *K. pneumoniae* se obtuvieron en personas del sexo masculino con un rango de edad de 0-93 años (mediana de edad de 58 años) para *E. coli* y de 0-83 años para *K. pneumoniae* y excluyendo los casos de menores de un año, la mediana fue de 64 años para *E. coli* y de 53 años para *K.pneumoniae*.<sup>23</sup> Al respecto, en nuestro estudio encontramos que en el 48% de los espermocultivos se aisló *E. coli* BLEE+, siendo, por lo tanto, una alta prevalencia en varones como se ha reportado en diferentes estudios.

## Comportamiento antimicrobiano

Los estudios *in vitro* de organismos productores de BLEE informan que dada la capacidad que tienen estos organismos para hidrolizar antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos, los antimicrobianos de elección para las infecciones se reducen seriamente. Los plásmidos que codifican genes BLEE con frecuencia también son portadores de genes que codifican resistencia a aminoglucósidos, quinolonas, trimetoprima/sulfametoxazol.<sup>14, 15, 18</sup> Así mismo, en la actualidad está en aumento el hallazgo de múltiples BLEE que reducen la eficacia de combinaciones de  $\beta$ -lactámicos/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas.<sup>14,32</sup> Estos hallazgos también los observamos en este estudio ya que *K. pneumoniae* productora de BLEE mostró una resistencia del 99% a la penicilina, el 68% a nitrofurantoína, 73% a cefalosporinas, 20% a quinolonas, 28% a trimetoprim/sulfametoxazol, 27% a la combinación de  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, *E. coli* BLEE+ fue resistente en 60% a las quinolonas, 57% a trimetoprima/sulfametoxazol y 54% a la combinación de  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, 77% a penicilinas, 65% a cefalosporinas y 66% a aztreonam.

Dado lo anterior, se señala que la elección de cefalosporinas de tercera generación como tratamiento para infecciones por productores de BLEE implica un fallo terapéutico (una mala opción de tratamiento), observándose que las tasas de fracaso aumentan en países de ingreso medio;<sup>14</sup> por lo tanto, se percibe la necesidad de buscar la presencia de BLEE en antibiogramas de rutina.<sup>17</sup>

Al respecto de la susceptibilidad que poseen los productores de BLEE a los antimicrobianos está estrechamente relacionada con los tipos de BLEE que poseen.<sup>32</sup> Sólo los carbapenems y fluoroquinolonas han mostrado actividad vs el 90% de cepas productoras de BLEE, por lo que se considera a estos antimicrobianos como la alternativa contra la mayoría de las enterobacterias productoras de BLEE.<sup>24, 32</sup> Existe una susceptibilidad de los carbapenems de 94-100% en productores de BLEE.<sup>7, 18</sup>

En este trabajo encontramos que ambas cepas BLEE+ son sensibles a carbapenems en un 99%. Con relación a *E.coli*, fue sensible también en el 85% a nitrofurantoína, 78% a aminoglucosidos y 35% a cefalosporinas. Por su parte, *K. pneumoniae* mostró sensibilidad en un 80% a quinolonas, 90% a aminoglucosidos y tetraciclinas, 72% a Trimetoprima/Sulfametoxazol y 73% a la combinación de  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, apegándose ambas cepas a los esquemas recomendados. Algunos autores sugieren también a las cefamicinas como tratamiento.<sup>24, 15,32</sup>

Cabe mencionar que hay estudios que informan que el uso de penicilinas, quinolonas, cefalosporinas de segunda y tercera generación puede ser un riesgo para desarrollar infecciones de vías urinarias e infecciones intra-abdominales por productores de BLEE,<sup>5,26,15</sup> por lo que el conocimiento de la respuesta de los antimicrobianos y los factores de riesgo podría ayudar a identificar a un paciente con alto grado de albergar productores de BLEE permitiendo así la administración más eficaz del tratamiento empírico.<sup>5</sup>

El uso de  $\beta$ -lactámicos se considera un riesgo ya que las penicilinas tienen la capacidad de desarrollar cepas productoras de BLEE.<sup>5</sup> Con relación a los  $\beta$ -lactámicos de segunda y tercera generación, la mayoría de los organismos productores de BLEE son resistentes a cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima.<sup>5,7,13,14,15,17,32</sup> Un estudio reveló que el uso de cefalosporinas de segunda y tercera generación en los últimos 3 meses puede ser un factor de riesgo para desarrollar infecciones por productores de BLEE ya que las cefalosporinas de segunda generación son utilizadas como tratamiento en pacientes ambulatorios.<sup>5</sup> En la literatura existen diversos reportes al respecto. En una investigación en Argentina en el 2005 se reporta una resistencia del 76% a ceftazidima, proponiéndose que el uso de ceftazidima en combinación con amikacina como esquema empírico para pacientes con neutropenia y fiebre (20-25 episodios al mes) haya contribuido al problema de BLEE en su hospital.<sup>25</sup> También se informa de una susceptibilidad de 0% a cefotaxima, ceftriaxona y cefepima en pacientes con infecciones de vías urinarias por *E. coli* productora de BLEE en pacientes ambulatorios.<sup>7,26</sup> En México, en un estudio llevado a cabo en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS reportan 76% de cepas de *K. pneumoniae* aisladas de hemocultivos resistentes a ceftazidima y el 78% a cefotaxima<sup>24</sup> y en el Hospital General de Durango se reportó que el 72% de las cepas de *K. pneumoniae* nosocomiales aisladas de sangre y orina fueron resistentes a cefotaxima.<sup>24</sup>

La cefepima no se considera deba ser usado como antibiótico de primera línea en infecciones por productores de BLEE con una CMI de 2g/mL, ya que se requiere el uso de dosis de al menos 2g dos veces al día, o sinergia cefepime-amikacina. Al respecto de cefamicinas, existen pocos informes sobre su uso en el tratamiento de infecciones por productores de BLEE.<sup>13</sup> Por otro lado, se señala que la cefoxitina y el cefotetan son resistentes a los efectos hidrolíticos de las BLEE debido a que en su molécula existe un grupo metoxi, por lo que no son afectados; sin embargo se reporta resistencia que aparece rápidamente debido a mutación en las porinas.<sup>15,24</sup>

Para contrarrestar el efecto de las  $\beta$ -lactamasas, se ha conformado una combinación entre el  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas. A pesar de que estas enzimas son generalmente inhibidas por los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como el ácido clavulánico y el tazobactam, se han mostrado resistencia *in vitro* (33-45%) a estas combinaciones.<sup>14</sup>

Estudios en animales han demostrado que las combinaciones son menos eficaces que los carbapenems vs. productores de BLEE. La experiencia clínica publicada con esta combinación se limita sólo a pocos pacientes, por lo que tampoco se considera como primera opción en el tratamiento para infecciones por productores de BLEE,<sup>7,14,26</sup> considerándose como tratamiento alternativo cuando se realiza un estudio de sensibilidad antimicrobiana (antibiograma) con el objetivo de reducir el consumo de carbapenems.<sup>7,14</sup> Por ejemplo, existen discrepancias en los resultados reportados en investigaciones, en Argentina se informa de una resistencia del 100% para piperacilina-tazobactam,<sup>25</sup> y en otro estudio se indica una susceptibilidad del 66% a la misma combinación.<sup>21</sup> Por otro lado, sólo el 67% de los pacientes con bacteriemia que recibieron tratamiento empírico inadecuado (que no fue controlada su

sepsis) fueron curados cuando fue cambiado con una combinación de  $\beta$ -lactámicos/inhibidores de  $\beta$ -lactamasas.<sup>26</sup>

Con relación a los carbapenems, son considerados los fármacos de elección para infecciones graves por productores de BLEE, la base para esta declaración no es sólo la susceptibilidad *in vitro* (son los únicos que conservan casi total actividad vs productores de BLEE) sino la cada vez más extensa experiencia clínica.<sup>14, 15,17</sup> No existe evidencia que una terapia combinada con un carbapenem y otra clase de antibiótico sea superior al uso de carbapenems solos.

Elegir entre imipenem y meropenem es difícil, la experiencia publicada indica mayor eficacia con imipenem y en países con ingresos medios informan meropenem. Se considera eficaz el ertapenem una vez al día en infecciones por productores de BLEE en residentes de asilos de ancianos o tratamiento que continua en el hospital.

Es importante señalar que la resistencia a los carbapenems en aislamientos de *K.pneumoniae* se está incrementado, existiendo una combinación de pérdidas de porinas y  $\beta$ -lactamasas, cambio en la afinidad de las proteínas de unión a la penicilina, presencia de  $\beta$ -lactamasa capaz de hidrolizar a carbapenémicos llamadas carbapenemasas.<sup>14, 17</sup> La epidemiología de resistencia a los carbapenems todavía no se ha estudiado en gran detalle, pero es una gran preocupación ya que se han reportado casos en unidades de cuidados intensivos, donde los pacientes fueron previamente tratados con imipenem. Se considera a la tigeciclina o polimixina como tratamiento en aislamientos de *K. pneumoniae* resistente a carbapenems.<sup>14</sup>

Por su parte, las quinolonas son el tratamiento de elección para infecciones urinarias complicadas siempre y cuando exista resistencia *in vitro*. Desafortunadamente debido al aumento en la resistencia *in vitro* en los productores de BLEE se limita el papel de las quinolonas como tratamiento en el futuro. Su uso se considera como factor de riesgo para adquirir una infección por productores de BLEE en residentes de asilos de ancianos.<sup>15, 26</sup> En estudios clínicos se evaluó la eficacia de éstas vs. carbapenems, encontrando que estos últimos son superiores a las quinolonas.<sup>14</sup> De esta manera, se reporta una susceptibilidad frente a ciprofloxacino del 66% en *E. coli* productora de BLEE y 1% para *K. pneumoniae*<sup>32</sup>; del 91-94% para *K. pneumoniae* en Hermosillo Sonora, México;<sup>15</sup> del 63% en *E. coli* productora de BLEE en pacientes ambulatorios y 42% en pacientes hospitalizados en España, y 58% en pacientes hospitalizados en Italia.<sup>7</sup> También se indica una susceptibilidad del 64% a levofloxacino.<sup>13</sup>

Se encuentran dos estudios que sugieren una sinergia *in vitro* de ciprofloxacino- $\beta$ -lactámico, ciprofloxacino-imipenem, cefotaxima-sulbactam; sin embargo no existen publicaciones sobre su uso clínico.<sup>14</sup>

Las enterobacterias BLEE+ han mostrado también resistencia a los aminoglucósidos, aunque los resultados son controversiales. En trabajos llevados a cabo en Argentina se reporta una resistencia a amikacina del 86 y 90%<sup>17,25</sup> sin embargo en estudios realizados en México se reporta una sensibilidad entre el 45 y 62% para el mismo antimicrobiano.<sup>18</sup> Para gentamicina se reporta resistencia del 18 y 34%, y susceptibilidad del 56% en pacientes hospitalizados.<sup>7</sup>

En el caso de trimetoprima/sulfametoxazol, también los resultados son controversiales. Se reporta resistencia del 79% y 96%<sup>7,17</sup> de susceptibilidad para *K. pneumoniae*<sup>18</sup> Su uso no es considerado como un factor de riesgo importante para desarrollar infecciones por productores de BLEE.<sup>5</sup>

Nitrofurantoína es el fármaco de primera elección en la comunidad e infecciones de vías urinarias,<sup>5</sup> y es un antimicrobiano al cual las cepas han mostrado aún, una alta susceptibilidad con muy poca resistencia.<sup>18</sup> Su uso es considerado como un factor de riesgo importante para desarrollar infecciones por productores de BLEE porque potencialmente se puede desarrollar resistencia por su uso.<sup>5</sup>

Para tigeciclina ninguna cepa ha presentado resistencia, encontrándose un 0.5% de susceptibilidad intermedia.<sup>7</sup>

La multirresistencia observada en cada cepa coincide con los reportes antes citados, la mayoría de las cepas productoras de BLEE son resistentes a ampicilina, cefalosporinas y con un porcentaje alto a trimetoprima/sulfametoxazol y a quinolonas para *E. coli* por lo que el uso de cualquier  $\beta$ -lactámico puede inducir su resistencia<sup>6,28</sup> muy probablemente porque los plásmidos que codifican BLEE también codifican con frecuencia determinantes genéticos de resistencia a trimetoprima/sulfametoxazol, quinolonas.<sup>26</sup>

Pudimos observar que amoxicilina- ácido clavulánico no fue muy activo contra las cepas de *E. coli* al igual que los datos reportados por otros autores, resultando ser resistente en más de la mitad de los casos.

En el caso de *K. pneumoniae* productora de BLEE no presentó un alto porcentaje de resistencia frente a quinolonas, combinación de  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas ni a trimetoprima/sulfametoxazol, pero no así para nitrofurantoína; por lo que se considera que el uso de quinolonas y trimetoprima/sulfametoxazol es un factor de riesgo para adquirir un organismo productor de BLEE.

El uso necesario de carbapenémicos podría contribuir a la selección de productores de carbapenemasas sumándose a los problemas de resistencia actuales.<sup>17</sup>

Es bien sabido que el perfil de multirresistencia antimicrobiana que expresan las cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ocasionan infecciones refractarias, especialmente en el ámbito hospitalario, ya que las BLEE inactivan a todas las penicilinas, cefalosporinas (excepto cefamicinas) y monobactámicos aumentando costos y estadía hospitalaria, ya que es necesario el uso de antimicrobianos caros (carbapenems).

Además, las cepas productoras de BLEE expresan con frecuencia resistencia a otros antibióticos no  $\beta$ -lactámicos: quinolonas, trimetoprima/sulfametoxazol y aminoglucósidos. Este fenotipo de resistencia, probablemente sea debida al uso empírico de estos antimicrobianos de uso frecuente y a los tratamientos inadecuados o interrumpidos en el tratamiento de las infecciones urinarias y a que los genes que codifican estas enzimas y los que codifican la resistencia a otros antimicrobianos, pueden residir en el mismo plásmido y

por lo tanto, se transmiten juntos de un microorganismo a otro, confiriendo el perfil de resistencia múltiple.<sup>28</sup>

El problema de la resistencia antimicrobiana es responsabilidad de todo el personal de salud que está involucrado con el uso de antibióticos. La mejor estrategia continúa siendo el uso adecuado de éstos. El conservar su utilidad por un tiempo prolongado depende de la prescripción razonada, no de la capacidad del fármaco por mantener su actividad ante la inevitable respuesta de las bacterias que les permite expresar sus mecanismos de resistencia.<sup>17,</sup>

<sup>33</sup> Puede haber aspectos particulares de la prescripción por ejemplo (en hospitales o en determinados grupos de edad) que impulsan la prevalencia global de la resistencia en la comunidad. Éstos podrían ser específicos en lugar de simplemente tratar de reducir la prescripción; además de reducir al mínimo la transmisión de grupos específicos (niños y ancianos)<sup>6</sup>, de ahí que la tasa de aumento de la resistencia depende del antimicrobiano y de cuanto se utiliza, las bacterias y la naturaleza de la comunidad.<sup>6</sup>

Es de todos sabido que el consumo de antimicrobianos altera la flora microbiológica del paciente, favorece la emergencia de resistencia bacteriana y predispone al desarrollo de infecciones por oportunistas. Para evitar su incremento en el futuro, deben de tomarse ciertas medidas en las instituciones de salud como el mantener un uso restringido de antimicrobianos nuevos y de amplio espectro; implantar y mantener diferentes programas básicos en el control de infecciones, como son: lavado de manos, control de equipos estériles, control de uso de desinfectantes, limpieza de áreas físicas, prevención de infecciones en trabajadores de la salud, así como la vigilancia específica de problemas especiales, control de uso de antimicrobianos, vigilancia de líneas vasculares, vigilancia de infecciones postquirúrgicas, programas de desecho de material infecto-contagioso, control de alimentos, etcétera. El éxito de cualquier programa de control de infecciones depende del entusiasmo con el cual cada miembro del comité desempeñe sus actividades cotidianas, y de la retroalimentación que se brinde al personal involucrado del hospital.

Así dentro de las prácticas para promover la optimización del uso de antimicrobianos y limitar la emergencia de bacterias multiresistentes se encuentran:<sup>25</sup>

- Desarrollo de protocolos guías para el uso de antimicrobianos que evitan la administración innecesaria e incrementan su efectividad temprana.
- Restricción de formularios hospitalarios que eviten el uso de ciertos antimicrobianos (carbapenems, cefalosporinas, quinolonas)
- Cambios en los esquemas de antimicrobianos en forma rotatoria programada
- Combinación de terapias antimicrobianas para reducir la emergencia de bacterias multiresistentes al máximo.
- Prescripción inadecuada de los antimicrobianos en general (tipo vía dosis intervalo de administración) especialmente en unidades críticas y de larga estancia.
- Tratamiento específico por área y en general educación sanitaria.

La emergencia reciente de organismos productores de BLEE posee un problema del manejo de antimicrobianos, sus genes son fácilmente transferidos por plásmidos de un organismo a

otro. Por lo que no es de extrañar que los productores de BLEE que se encontraban principalmente en hospitales se esté convirtiendo común encontrarlos en infecciones adquiridas en la comunidad. Como en infecciones de vías urinarias.<sup>23, 26,27</sup>

Las BLEE han evolucionado mucho en los últimos 20 años. Su presencia, además de plásmidos portadores de genes que codifican resistencia a quinolonas y la resistencia a carbapenems, implica tener importantes problemas terapéuticos en el futuro. Es poco probable que muchos de los nuevos antimicrobianos estén disponibles en los próximos 10 años haciéndoles frente a las bacterias multirresistentes.

Es importante que exista mayor control sobre la administración de los antimicrobianos, mayor control sobre las infecciones con el fin de limitar la propagación de las bacterias productoras de BLEE. No hay duda de que las BLEE serán cada vez más complejas y diversas en el futuro. Esto creará desafíos cada vez mayores para su detección en el laboratorio de microbiología.<sup>14</sup>

## CONCLUSIÓN

### *Hipótesis*

*La resistencia antimicrobiana es uno de los principales problemas de salud pública en todo el mundo, y se está incrementando ahora en los países en desarrollo. Una de las principales causas es el desarrollo de mecanismos protectores en las bacterias como la producción de  $\beta$ -lactamasas, debida al mal uso de los antimicrobianos, principalmente en mujeres que acostumbran automedicarse. La población en general tiende a utilizar indiscriminadamente los antimicrobianos, pudiendo provocar resistencia bacteriana, de ahí que la prevalencia de BLEE en este grupo de pacientes puede oscilar entre el 10 y 20%, siendo las muestras de orina de mujeres las principalmente portadoras.*

### Conclusión

- Más del 40% de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas fueron BLEE positivas, encontrándose *E. coli* en el 69% de pacientes del sexo femenino y *K. pneumoniae* no mostró diferencia por sexo.
- La prevalencia de aislamientos de cepas BLEE+ de ambos microorganismos se incrementa conforme aumenta la edad, con una mayor prevalencia después de los 70 años.
- *E. coli* BLEE positiva es resistente en más del 50% a quinolonas, trimetoprima/sulfametoxazol, combinación de  $\beta$  lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, penicilinas, cefalosporinas, y aztreonam y *K. pneumoniae* en el 99% a la penicilina y mayor del 60% a nitofurantoína, cefalosporinas; ambas son susceptibles en un 99% a carbapenems.

## **PROPUESTAS**

- Estudiar los factores predisponentes en pacientes ambulatorios que pudiesen contribuir a adquirir una infección por microorganismos productores de BLEE.
- Investigar con fines epidemiológicos que tipo BLEE están presentando los pacientes ambulatorios.
- Analizar las opciones terapéuticas empíricas hasta ahora descritas para replantear nuevas opciones de tratamiento empírico a fin de reducir la resistencia antimicrobiana.
- Investigar la epidemiología de organismos productores de carbapenemasas.

## REFERENCIAS

1. McCarter YS. Modos de acción de los antimicrobianos. En: Coyle MB [ed]. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Seattle, Washington: American Society for Microbiology; 2005. p. 3-9.
2. Tay ZJ. Microbiología y parasitología médicas 3a ed. México: Méndez Editores; 2003. p. 1-8.
3. Jehl F, Chomarat M, Weber M, Alain G. Los antibióticos: clasificación, espectro y mecanismos de acción. En: Baquero F, Cantón R [Eds] Del antibiograma a la prescripción. 2ª ed. España: Biomérieux; 2004. p. 8-9, 19, 28.
4. González-Salvatierra R, Benguini Y. Resistencia antimicrobiana en las Américas: Magnitud del problema y su contención. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2000. p. VII-IX.
5. Colodner R, Rock W, Chazan B, N. Keller, Guy N, Sakran W, Raz R. Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. Clin Microbiol Infect Dis. 2004; 23: 163-7.
6. Hoffmann K, Wagner G, Apfalter P, Maier M. Antibiotic resistance in primary care in Austria a systematic review of scientific and grey literature. BMC Infect Dis. 2011;11:330. doi: 10.1186/1471-2334-11-330.
7. Hernández AE. *Escherichia coli* productores de BLEE aislados de urocultivo: implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria. [tesis]. Para obtener el grado de Doctor. Universidad Complutense de Madrid, 2005.
8. Salim M, Martínez P. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiología. Montería, Colombia: Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico; 2005. p. 23-25.
9. Shah A, Hasan F, Ahmed S, Hameed A. Extended-spectrum [beta]-lactamases (ESBLs): Characterization, epidemiology and detection. Islamabad, Pakistan: Microbiology Research Laboratory, Department of Biological Sciences; 2004. p. 25-32.
10. Shah A, Hasan F, Ahmed S, Hameed A. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. Islamabad, Pakistan: Microbiology Research Laboratory, Department of Biological Sciences; 2004. p. 409-21.
11. López-Vargas J, Echeverri-Toro L. *K. pneumoniae*: ¿la nueva “superbacteria”? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. IATREIA. 2010; 23: 157-63.
12. Arpin C, Fischer I, Noury P, Grobost F, Larribet J, Lagrange I, et al. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Community and Private Health Care Centers. Antimic Agents Chemother. 2003; 47: 3506-14.
13. Gobernado M. Betalactamasas de espectro extendido en aumento. Rev Esp Quimioterap. 2005; 18: 115-7.
14. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005; 18: 657-86.
15. Nteimam J. [Letter] Screening for extended-spectrum beta-lactamase-producing pathogenic Enterobacteria in District General Hospitals. J Clin Microbiol. 2005; 43: 1488-90.
16. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, Pérez-Cano R, Pascual A. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. J Clin Microbiol. 2004; 42: 1089-94.

17. Muzachiodi M, Ferrero S. Incidencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. Corrientes, Argentina: Facultad de Ciencias Exactas Naturales y Agrim. Depto. de Bioquímica. 2005.
18. Navarro M, Robles E, Garibay E, Ruiz E. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* comunitarias y hospitalarias productoras de  $\beta$ -lactamasas en hospitales de Hermosillo, Sonora. Salud Pública México. 2011; 53: 341-4.
19. MacLowry JD, Marsh HH. Semi-automatic microtechnique for serial dilution antibiotic sensitivity testing in the clinical laboratory. J Lab Clin Med. 1968; 72: 685-7.
20. Gerlach, EH. Microdilution 1: a comparative study. In: Balows A. (ed.). Current techniques for antibiotic susceptibility testing. Springfield, IL: Charles C. Thomas; 1974. p. 63-76
21. Barry AL. The antimicrobial susceptibility test, principles and practices. Philadelphia: Lea and Febiger; 1976.
22. bioMérieux. Información de producto VITEK® 2 Systems. Durham, North Carolina: bioMérieux, Inc.; 2010. p. 197-207.
23. Hernández J, Pascuala A, Cantón R, Martínez-Martínez L, Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003, 21: 77-82.
24. Navarro M, Moreno B, López B, *et al.* Detección de Cepas de *Escherichia coli* y *K. pneumoniae*. Productoras de  $\beta$ - lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en el Hospital Infantil del Estado de Sonora. Bol Clin Hosp Infant Edo Sonora. 2005; 22: 64-70.
25. Cruz E, Miranda G. Perdiendo la batalla: resistencia antimicrobiana en enterobacterias productoras betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) y estrategias de control. Volumen 25, Num. 1. Argentina 2004.
26. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, Pérez-Cano R, Pascual A. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. J Clin Microbiol. 2004; 42: 1089-94.
27. Emery CL, Weymouth L. Detection and clinical significance of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in a tertiary-care medical center. J Clin Microbiol. 1995; 35: 2061-7.
28. Morales-Gloria I. Perfil fenotípico de susceptibilidad en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos del Hospital Rosario Pumarejo de López en la ciudad de Valledupar 2011. Disponible en: <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/4509/2/Perfil-fenotipico-de-susceptibilidad-en-cepas-de-Escherichia-coli-aisladas-en-urocultivos>
29. Seija V, Frantchez V, Pintos M, Bataglini M, *et al.* Etiología de la infección urinaria de adquisición comunitaria y perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* a los principales agentes antimicrobianos. Rev Med Urug. 2010; 26: 14-24
30. Vergara V, Rodríguez Y, Benítez E, Y. Garmendia, *et al.* Enterobacterias productoras de beta lactamasa de espectro expandido en pacientes críticos de la Maternidad «Concepción Palacios» Act Cient SocVenz Bioanal Espec. 2007; 10(1): 33-38.
31. Silva J, Barrios H, Reyna F Margarita, *et al.* Prevalence and characterization of plasmid-mediated quinolone resistance genes in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolates in Mexico. Microb Drug Resist. 2011; 17(4).doi: 10.1089/mdr.2011.0086.
32. Silva J, Garza J, Reyna F, Sánchez A, Rojas T, Andrade V, *et al.* Extended-spectrum- $\beta$  lactamase-producing Enterobacteriaceae causing nosocomial infections in Mexico. A retrospective and multicenter study. Arch Med Res. 2011; 42: 156-62.
33. Díaz R, Solórzano F, Padilla G, Miranda G. *et al.* Infecciones nosocomiales. Experiencia en un hospital pediátrico de tercer nivel. Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional

Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México. Salud Publica Mex 1999; 41(suppl 1):S12-S17.

34. Cruz F. Mecanismos de resistencia de las bacterias. Zaragoza, España 2010. Imágenes disponibles en: <http://fcruzbello.es/2010/01/mecanismos-de-resistencia-de-las-bacterias.html>
35. Quintana A. Antibióticos bases microbiológicas del uso de antimicrobianos. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2028.pdf>