

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PREVALENCIA DE AISLAMIENTOS DE *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* PRODUCTORAS DE
 β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN EL LABORATORIO CLÍNICO DEL CENTRO
MÉDICO DR. IGNACIO CHÁVEZ DEL ISSSTESON



Presenta:

Teolincacihuatl Ayala Núñez

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han contribuido a la realización de esta tesis, especialmente al M.C. Moisés Navarro Navarro, por la confianza que depositó en mí, dandome la oportunidad de realizar esta tesis bajo su dirección. Por la profesionalidad y dedicación con la que ha dirigido este trabajo y por el gran apoyo que me ha demostrado en todo momento.

A mis sinodales M.C. Lucía Castellón Campana, M.C. Griselda Macrina Moreno Ibarra y al M.C. Jose Rogelio Ramos Enríquez por su apoyo, su tiempo y su guía a lo largo de la revisión de este trabajo. Por sus conocimientos y consejos compartidos.

Al M.C. Román Escobar López, jefe del Laboratorio del Centro Médico Dr. Ignacio Chávez del ISSSTESON y a los químicos, Q.B. Clara Guadalupe Castro Sánchez y Q.B. Juan De Dios Castañeda Duarte, por el apoyo brindado en una parte fundamental de este trabajo.

A mis amigas Nancy y Haydee por todos esos momentos de alegría, por haberme permitido conocerlas y por que dejaron una huella muy importante en mi etapa universitaria, en mi vida y en mi corazón. Que nuestra amistad perdure mas allá de cualquier ideología, sendero tomado o incluso de nosotros mismos.

DEDICATORIAS

A DIOS:

Gracias por la familia que me entregaste, que siempre ha estado conmigo.

A todos los amigos que me presentaste y has regalado. Gracias por todos estos años de vida y salud que has compartido conmigo. Te agradezco este momento tan especial que lo he alcanzado gracias a ti y a mis padres.

A MIS PADRES:

TEÓFILO E ISABEL

Por darme la vida, por apoyarme y brindarme todo lo que he necesitado. Les agradezco el esfuerzo, sacrificio, paciencia, comprensión, cuidado y amor que me han brindado durante mi vida. Este logro es gracias al esfuerzo que tuvieron hacia mí, por lo que este momento es de ustedes, mil gracias y que Dios los bendiga siempre.

A MIS HERMANAS Y HERMANO:

ISABEL, DIANA ELOISA Y JULIO CESAR

Gracias por el apoyo, ayuda y paciencia que me han brindado. Hoy cierro otra etapa de mi vida y le doy gracias a Dios de que les siga dando vida para compartirla a su lado.

A MIS AMIGAS Y AMIGOS

Quienes me han acompañado a lo largo de mi vida, y con quienes he compartido tantas experiencias y emociones, momentos inolvidables que siempre llevaré en mi corazón, les deseo éxitos en su vida personal y profesional.

CONTENIDO

	Página
ABREVIATURAS	7
LISTA DE TABLAS	10
LISTA DE FIGURAS	11
OBJETIVOS	13
Objetivos Generales	13
Objetivos Particulares	13
RESUMEN	14
INTRODUCCIÓN	16
ANTECEDENTES	19
<i>Escherichia coli</i>	19
Generalidades	19
Patogenia	19
Infecciones en tracto urinario	20
Infecciones en tracto respiratorio	22
Infecciones en sangre	22
Otras infecciones	22
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
Generalidades	23
Patogenia	23
Infecciones en tracto urinario	24
Infecciones en tracto respiratorio inferior	24
Resistencia Bacteriana	25
Mecanismos de Resistencia	26
Propagación de la Resistencia	27
Antibióticos	29
Mecanismos de Acción y Clasificación	29
β-lactámicos	30
Mecanismos de Acción	30
Clasificación y Estructura Química	31
Estructura química de las penicilinas	31
Estructura química de las cefalosporinas	31
Estructura química de los carbapenems	32
Estructura química de los monobactams	33
Estructura química de los inhibidores de las β-lactamasas	34
Mecanismos de Resistencia a los Antibióticos β-lactámicos	34
β-lactamasas	35
Generalidades	35
Clasificación de las β-lactamasas	36
Clasificación molecular de Ambler	36
Clasificación de Bush-Jacoby-Medelier	36
β-lactamasa de Espectro Ampliado (βLEA)	38
β-lactamasa de Espectro Extendido (βLEE)	38
βLEE tipo TEM	39
βLEE tipo SHV	40

βLEE tipo CTX-M	40
Otras βLEE	41
Inhibidores de βLEE	41
Bacterias Productoras de βLEE	42
<i>Escherichia coli</i> Productora de βLEE	42
Perfil de resistencia	43
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Productora de βLEE	44
Perfil de resistencia	44
Otras Bacterias Productoras de βLEE	45
Factores de Riesgo	46
Tratamiento de Infecciones por Bacterias Productoras de βLEE	47
Medidas de Control de la Aparición y Diseminación de las Infecciones por βLEE	49
Epidemiología	50
Epidemiología Global	51
Europa	51
Norteamérica	52
Asia	53
África y el Medio Este	53
Australia	53
América Latina	54
México	55
Detección de Microorganismos Productores de βLEE	56
Técnicas de Tamizaje de Producción de βLEE	56
Método de disco-difusión	57
Método de susceptibilidad antimicrobiana por dilución	57
Técnicas Fenotípicas Confirmatorias de Producción de βLEE	58
Técnica de doble difusión con discos	58
Concentración mínima inhibitoria (CMI) en caldo	59
Doble difusión con y sin ácido clavulánico de potasio	59
E-test	59
Pruebas automatizadas	61
Métodos bioquímicos	61
Métodos moleculares	61
MATERIALES Y MÉTODOS	63
Tipo de Estudio y Tamaño de la Muestra	63
Identificación de los Aislamientos y Resistencia a los Antibióticos	63
Detección Fenotípica de Producción de βLEE	65
Análisis Estadístico	65
RESULTADOS Y DISCUSIONES	66
Aislamientos Totales	66
Prevalencia de Productores de βLEE	66
Prevalencia de Aislamientos Productores de βLEE por Servicio Hospitalario	71
Prevalencia de Aislamientos Productores de βLEE por Sitio Anatómico	71
Distribución de los Aislamientos Productores de βLEE por Género y Edad	73
Susceptibilidad a los Antibióticos en los Aislamientos Productores de βLEE	76
CONCLUSIONES	80
RECOMENDACIONES	81
BIBLIOGRAFÍA	82

ABREVIATURAS

β LEA: β -lactamasa de Amplio Espectro.

β LEE: β -lactamasa de Espectro Extendido.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AMK: Amikacina.

AmpC: β -lactamasa derivada de la contracción “ β -lactamasa que otorga resistencia a Ampicilina con Codificación Cromosomal”.

ATCC: American Type Culture Collection. (Colección americana de cultivos celulares).

BICS: Sociedad Belga para el Control de Infecciones.

CAZ: Ceftazidima.

CDC&P: Center for Disease Control and Prevention. (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades).

CIP: Ciprofloxacino.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio).

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria.

CMIC: Centro Médico Dr. Ignacio Chávez.

CTX: Cefotaxima.

CTX-M: β -lactamasa derivada de la contracción “Cefotaximasa aislada en Munich”.

CODEINEP: Control de infecciones y epidemiología.

EARSS: European Antimicrobial Surveillance System. (Red de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos Europea).

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.

EE.UU.: Estados Unidos.

ETP: Ertapenem.

FEP: Cefepima.

GEN: Gentamicina.

HIES: Hospital Infantil del Estado de Sonora.

IDSA: The Infectious Diseases Society of America. (Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América).

IPM: Imipenem.

ISSSTESON: Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado de Sonora.

ITU: Infección del tracto urinario.

IVU: Infección en vías urinarias.

LACIUS: Laboratorio Clínico e Investigación de la Universidad de Sonora.

LPS: Lipopolisacáridos.

MEM: Meropenem.

MFX: Moxifloxacino.

MYSTIC: Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection. (Recopilación de Información de Pruebas de Susceptibilidad Anual Meropenem).

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards. (Comisión Nacional de Normas Estándares de Laboratorio Clínico).

NCSS: Number Cruncher Statistical System. (Sistema Estadístico Number Cruncher).

NIT: Nitrofurantoína.

OXA: β -lactamasa derivada de la contracción de: " β -lactamasa que otorga resistencia a Oxacilina".

PBP: Proteínas Ligadoras de Penicilinas.

PCR: Polymerase Chain reaction (Reacción en Cadena de la Polimerasa).

PCR-RFLP: Restriction fragment length polymorphisms. (Reacción en Cadena de la Polimerasa - Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción).

pI: Punto Isoeléctrico.

SHV: β -lactamasa derivada de la contracción "Sulfhidril Variable".

TEM: β -lactamasa derivada de la contracción del nombre griego "Temoniera".

TIG: Tigeciclina.

SAM: Ampicilina-sulbactam.

SxT: Sulfametoxazol/trimetoprim.

TGI: Tracto Gastrointestinal.

TLA: β -lactamasa derivada de la contracción del nombre de la cultura "Tlahuica".

TOB: Tobramicina.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

TZB: Piperaciclina-tazobactam.

WHO: World Health Organization.

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Factores de riesgo para padecer una ITU.....	21
2. Principales mecanismos de resistencia al antibiótico.....	27
3. Mecanismos responsables de la forma horizontal.....	28
4. Grupos principales de los antibióticos.....	29
5. Clasificación de las cefalosporinas.....	32
6. Clasificación de β -lactamasas según el sistema de Ambler.....	36
7. Clasificación funcional de β -lactamasas según el sistema de Bush-Jacoby-Medeiros.....	36
8. Tipos de β -lactamasas de espectro extendido.....	40
9. Grupo de enterobacterias productoras de β LEE.....	45
10. Factores de riesgo para infección o colonización con Enterobacterias productoras de β LEE.....	47
11. Prevalencia de β LEE en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> en América Latina.....	55
12. Prevalencia de los aislamientos productores de β LEE en el CMIC, Hermosillo Sonora, México.	68
13. Prevalencia en aislamientos productores de β LEE en 2008 y 2012 en el CMIC, Hermosillo, Sonora, México.....	70
14. Distribución y comparación de aislamientos productores de β LEE por servicio hospitalario en el CMIC, Hermosillo, Sonora, México.....	72
15. Frecuencia de aislamientos de <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> productores de β LEE por sitio anatómico, en pacientes hospitalizados y no hospitalizados en el CMIC, Hermosillo, Sonora, México.....	74
16. Comparación de la susceptibilidad a los antibióticos de <i>E. coli</i> productores de β LEE en los dos estudios.....	79

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Mecanismos de transferencia genética de la resistencia bacteriana.....	28
2. Estructura del anillo β -lactámico.....	30
3. Estructura básica de las penicilinas.....	31
4. Estructura básica de las cefalosporinas.....	32
5. Estructura básica de los carbapenems.....	33
6. Estructura química del aztreonam.....	33
7. Estructura química de los inhibidores de β -lactamasas.....	34
8. Método de disco-difusión.....	57
9. Prueba por dilución en caldo.....	58
10. Método confirmatorio. Doble difusión con discos.....	59
11. Método confirmatorio. Doble difusión con y sin ácido clavulánico de potasio..	60
12. Método E-test.....	60
13. Informe del laboratorio del CMIC.....	64
14. Aislamientos totales de <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> en el CMIC. Hermosillo Sonora, México. Febrero – Junio 2012.....	66
15. Porcentaje de la prevalencia de los microorganismos productores de β LEE en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México.....	67
16. Porcentaje de la prevalencia de <i>E. coli</i> productores de β LEE en el CMIC Hermosillo, Sonora, México. Febrero – Junio 2012.....	68
17. Porcentaje de la prevalencia de <i>K. pneumoniae</i> productora de β LEE en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México. Febrero – Junio 2012.....	69
18. Porcentaje de aislamientos productores de β LEE en relación al género de los pacientes en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México. Febrero – Junio 2012	75
19. Porcentaje de aislamientos de <i>E. coli</i> productores de β LEE en relación a la edad de los pacientes en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México. Febrero – Junio 2012.....	75

20. Porcentaje de aislamientos de <i>K. pneumoniae</i> productores de β LEE en relación a la edad de los pacientes en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México Febrero – Junio 2012.....	76
21. Susceptibilidad a los antibióticos en aislamientos de <i>E. coli</i> productores de β LEE.....	78
22. Susceptibilidad a los antibióticos en aislamientos de <i>K. pneumoniae</i> productores de β LEE.....	79

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la prevalencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (β LEE) en aislamientos clínicos del Centro Médico Dr. Ignacio Chávez (CMIC) y comparar con estudios anteriores.

Objetivos Particulares

- Determinar la prevalencia de los aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β LEE.
- Conocer los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana en los aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores y no productores de β LEE.
- Determinar los servicios médicos y las muestras clínicas con mayor prevalencia de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β LEE.
- Evaluar si existen cambios significativos en la prevalencia de estos microorganismos en relación a estudios anteriores.

RESUMEN

La resistencia a los antibióticos permite a un patógeno bacteriano sobrevivir mientras causa una infección, en ocasiones con consecuencias mortales. La Organización Mundial de la Salud, emitió una advertencia de que el nivel de resistencia a los fármacos utilizados para combatir las enfermedades infecciosas más comunes, está llegando a un punto crítico, por lo que se establece para prevenir la resistencia es una mejor vigilancia de esta resistencia, concientización y educación del público y los profesionistas médicos y un diagnóstico rápido para un tratamiento oportuno y efectivo. De los puntos anteriores, la vigilancia es esencial para interrumpir la diseminación de cepas resistentes y debe realizarse a nivel local, nacional e internacional con el fin de orientar en la toma de decisiones. Entre las especies bacterianas que actualmente están causando serios problemas clínicos debido a su resistencia a los antibióticos se encuentran *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (β LEE).

Las β LEE inactivan a las cefalosporinas de espectro extendido como ceftazidima, cefotaxima y la ceftriaxona, además al monobactámico aztreonam, lo que ha contribuido significativamente al aumento de la problemática de la resistencia a los antibióticos.

Por lo anterior, se propuso determinar la prevalencia de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β LEE en el Centro Médico Dr. Ignacio Chávez del ISSSTESON. La identificación y pruebas de susceptibilidad de 473 aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* obtenidos del 1º de Febrero al 31 de Julio de 2012 se realizó utilizando el sistema Vitek2 (BioMerieux) en el laboratorio Clínico del CMIC. Los aislamientos resistentes al menos a una cefalosporina de tercera generación y/o aztreonam fueron conservados y analizados fenotípicamente en su producción de β LEE por el método de disco difusión de doble disco utilizando cefotaxima y ceftazidima con y sin clavulanato de potasio. Se registró la muestra clínica y el servicio hospitalario de donde se originó el aislamiento.

Se obtuvieron 415 aislamientos de *Escherichia coli* (88.0%) y 58 de *Klebsiella pneumoniae* (12.0%), la prevalencia de productores de β LEE entre todos los aislamientos fue de 16.5%. Se encontró una prevalencia de 18.0% y 7.0% de productores de

β LEE para *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* respectivamente. Los microorganismos productores de β LEE se aislaron más frecuentemente de pacientes no hospitalizados (73.0%) y como causantes de infección en el tracto urinario (48.0%). Estos aislamientos fueron comúnmente sensibles a los antibióticos carbapenémicos (100.0%) y tigeciclina (95.0%). No se observó diferencia significativa entre la prevalencia encontrada en el presente trabajo en relación al estudio realizado en el año 2008-9 ($p>0.15$).

El estudio demuestra la presencia de microorganismos productores de β LEE en el CMIC con igual prevalencia del estudio anterior. Los microorganismos productores de β LEE continúan aislándose con mayor frecuencia como causantes de infección en el tracto urinario de pacientes no hospitalizados.

INTRODUCCIÓN

En la segunda mitad del siglo pasado se creía que las enfermedades infecciosas habían dejado de ser la principal causa global de mortalidad en los países desarrollados; sin embargo, durante los últimos treinta años surgieron una serie de hechos que no permitieron seguir manteniendo la ideología de una ‘batalla definitiva’ contra las bacterias (Zamudio, 2009).

La alta incidencia de las enfermedades infecciosas, la importancia de las enterobacterias como agentes causales más frecuentes y el surgimiento y diseminación de microorganismos resistentes a diversas familias de antibióticos son factores que concurren en uno de los mayores problemas para la salud pública; la multirresistencia (Clavo y col., 2010).

La multirresistencia involucra cada día nuevas especies bacterianas y nuevos mecanismos de resistencia debido al uso excesivo y con frecuencia empírico de los antibióticos para el tratamiento de diferentes situaciones clínicas, lo cual conlleva a modificaciones en la ecología bacteriana y así al surgimiento de microorganismos resistentes a estos compuestos. Entre los agentes bacterianos causales destacan *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus coagulasa negativo* (Salazar y col., 2002). Siendo las bacterias Gram negativas quienes constituyen uno de los principales grupos bacterianos entre los que se observa un incremento de la resistencia antimicrobiana (Cires, 2002; Chandran y col., 2008).

Se conoce que principalmente *Escherichia coli* es causa frecuente de diferentes infecciones bacterianas comunes como es el caso de las del tracto urinario, bacteriemias y diarreas. También es un importante agente etiológico de meningitis neonatal y neumonías (Hunter, 2003; Smith y col., 2007).

Otra bacteria Gram negativa de gran importancia es *Klebsiella pneumoniae*, la cual está presente de manera especial en las superficies mucosas de mamíferos; en los seres humanos coloniza la nasofaringe y el tracto gastrointestinal. Es agente causal de diversas enfermedades entre las que destaca la neumonía (Struve y Krogfelt, 2004).

Entre los antibióticos más ampliamente utilizados se encuentran los β -lactámicos, debido a su baja toxicidad y a su amplio espectro, pero se han encontrado bacterias productoras de β -lactamasas con capacidad de inactivar este tipo de antibióticos. Los genes que codifican para las β -lactamasas mutan de acuerdo con la presión selectiva y al mal uso de antibióticos, ampliando o disminuyendo su espectro de sustratos (Neuwirth y col., 2000).

Las β -lactamasas son uno de los mayores mecanismos de defensa de las bacterias Gram negativas frente a los antibióticos β -lactámicos. Una de estas enzimas conocidas como β -lactamasas de espectro extendido (β LEE) son responsables de la mayor parte de los fracasos terapéuticos debido a que hidrolizan el anillo β -lactámico de la mayoría de los antibióticos β -lactámicos. Las cepas que producen β LEE, en su mayoría enterobacterias, y en particular *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, son resistentes a todos los antibióticos β -lactámicos con excepción de los carbapenems y las cefamicinas (Navarro y col., 2002; Trupia y col., 2005).

Los factores de riesgo para la adquisición de enterobacterias productoras de β LEE son enfermedades graves, hospitalización prolongada, permanencia prolongada en la unidad de cuidados intensivos, procedimientos invasivos, presencia de catéteres intravasculares, nutrición parenteral total, ventilación mecánica, catéteres urinarios, gastrostomía, yeyunostomía o uso de sonda nasogástrica, edades extremas, hemodiálisis, úlceras de decúbito, desnutrición y bajo peso al nacimiento. Se reconocen como reservorios y vectores, la colonización de las manos del personal de salud, termómetros, geles de ultrasonografía, catéter de oxigenación, entre otros (Ambrose y col., 2003).

La producción de β LEE se asocia con resistencia a muchos antibióticos como aminoglucósidos, cloranfenicol, sulfametoxazol/trimetoprim (SxT) y quinolonas, por lo que el médico obtiene pocas opciones terapéuticas a la hora de administrar antibióticos a pacientes con infecciones causadas por cepas de enterobacterias productoras de β LEE, especialmente cuando se trata de infecciones graves como bacteriemias, neumonías intrahospitalarias o peritonitis. El tratamiento recomendado frente a estas infecciones incluye el uso de antibióticos carbapenémicos, por lo que el panorama es mucho peor y las opciones terapéuticas restantes son muy pocas cuando se aíslan cepas productoras de carbapenemasas (Paterson, 2006; Diestra y col., 2008).

Por lo anterior, es indispensable la detección oportuna y correcta de microorganismos productores de β LEE, para así poder generar un tratamiento adecuado, establecer medidas de control de infecciones intrahospitalarias evitando la diseminación de este microorganismo y evitar el aumento de la morbimortalidad (Ercis y col., 2007; Kola y col., 2007; Wiegand y col., 2007).

ANTECEDENTES

Escherichia coli

Generalidades

Escherichia coli, es el organismo procariota más estudiado por el ser humano. Se trata de una bacteria cuyo hábitat es el tracto gastrointestinal de animales y humanos. También puede encontrarse en tierra, aguas blancas y negras y alimentos. Ésta y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo, además de producir vitaminas B y K que son absorbidas por el huésped (González, 2011).

Esta bacteria coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, entre ellos diarrea (Castro y col., 2008). Una vez establecida, *Escherichia coli* puede persistir durante meses o años (Todar, 2008).

Patogenia

Escherichia coli es la enterobacteria más importante ya que es la que se halla con más frecuencia en el tracto digestivo y la más descrita como causa de patología en los seres humanos (Mandell y col., 2005).

Es agente etiológico de diversas infecciones entre las que destacan las infecciones en el tracto urinario (ITU), gastroenteritis, bacteriemia, quirúrgicas e intraabdominales, tanto hospitalarias como comunitarias (Gupta, 2007; Castro y col., 2008).

Infecciones en tracto urinario. Si bien el hábitat de *Escherichia coli* es el tracto gastrointestinal, el sitio más común de infección es el tracto urinario. *Escherichia coli* es la causa más frecuente de infección urinaria. Los aislamientos causantes de ITU son llamados uropatógenos (Rondón y col., 2007). Exceptuando la uretra, el tracto urinario normalmente es estéril, pero bajo ciertas circunstancias una vez que ciertos microorganismos intestinales, entre ellos, *Escherichia coli*, colonizan el perineo, pueden colonizar la uretra hasta llegar a vejiga y/o riñón, induciendo una fuerte respuesta inflamatoria que se manifiesta como pielonefritis aguda y crónica, cistitis y síndrome uretral agudo (Hernández, 2010).

Más del 95% de las ITU son monobacterianas, siendo *Escherichia coli* el microorganismo más frecuentemente implicado en la infección aguda y en infecciones producidas en pacientes ambulatorios. Sin embargo en el caso de infecciones recurrentes, especialmente en presencia de anomalías estructurales del aparato urinario, como son anomalías congénitas, vejiga neurogénica y obstrucciones del aparato urinario, los géneros implicados son *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* y *Enterobacter* seguido de *Enterococcus* y *Staphylococcus* (Hernández, 2010).

La distribución epidemiológica no es uniforme, variando su incidencia en función de la edad y el sexo. En lactantes menores de 3 meses predomina en varones y posteriormente es más frecuente en niñas. En la edad adulta, existe una mayor prevalencia en la mujer coincidiendo con el inicio de las relaciones sexuales. En la vejez la incidencia de ITU aumenta en ambos sexos, aunque de manera más marcada en varones (Tabla 1) (Hernández, 2010).

La ITU es la infección que complica en mayor grado los embarazos. En una embarazada con hipertermia es obligatorio descartar una ITU más que una viremia. Lo primordial es diagnosticar las ITU asintomáticas y tratarlas adecuadamente para evitar bacteriemias y las pielonefritis las cuales se presentan entre el 20.0 y el 40.0% de las gestantes que presentan bacteriuria en el primer trimestre (Rondón y col., 2007). Estudios realizados en EE.UU. durante el 2008 estimaron una incidencia de 8 millones de episodios de IVU al año. (Gómez y col., 2009).

Tabla 1. Factores de riesgo para padecer una ITU.

Comunitario	Hospitalario
Género femenino	Sondas vesicales
Diabetes	Fallas en el cuidado de la sonda
Desnutrición	Larga duración
Edad	Inmunosuprimidos
Insuficiencia renal	Sepsis
Embarazo	
Neoplasia	
Hepatopatía	

El cultivo de orina es el más común en los laboratorios de microbiología (24.0 – 40.0% de los cultivos solicitados) establece el diagnóstico etiológico de certeza de una infección urinaria tanto sintomática como asintomática (bacteriuria asintomática) en pacientes con riesgo de infección; que permite a su vez la realización de estudios de sensibilidad (Albarado y col., 2009).

Se debe tener especial interés en evitar que se desarrolle la resistencia bacteriana en los ancianos. Del 50.0 al 70.0% de los pacientes geriátricos que fueron tratados por una bacteriuria asintomática presentaron una recidiva infecciosa. En el tratamiento de la ITU sintomática en el anciano se deben tener algunas consideraciones como el resultado del urocultivo y su sensibilidad, la función renal que, como se sabe, disminuye a medida que la edad avanza y las posibles interacciones medicamentosas (Rodón, 2007).

Hay información que señala la resistencia bacteriana de *Escherichia coli* a ciertos antibióticos, que va desde el 28.0 al 39.0% para ampicilina, 31.0% para sulfametoxazol/trimetoprim, entre el 9.0 y 19.0% para cefalosporinas y 1.0% para cefuroxima. Por lo que, se ha cuestionado el uso de la ampicilina para el tratamiento inicial de la infección de vías urinarias por sus altas tasas de resistencia bacteriana en las distintas poblaciones estudiadas (Ferreira y col., 2008).

Infecciones en tracto respiratorio. Las infecciones del tracto respiratorio suelen ser oportunistas. En los pacientes con enfermedades graves, la alteración de la fisiología permite la colonización de la vía respiratoria y gástrica. El cuadro clínico suele ser el de una bronconeumonía que compromete más a los lóbulos inferiores, con empiema en un tercio de los pacientes y bacteriemia en otro. La tasa de mortalidad es alta (50.0% o más) favorecida sobre todo porque afecta a personas debilitadas (Puerta y Mateos, 2010).

Infecciones en sangre. *Escherichia coli* es el patógeno causante de las tres cuartas partes de las bacteriemias por Gram negativos de la comunidad. Es posible que la característica distintiva de la bacteriemia por Gram negativos sea la reacción sistémica a la endotoxina que a veces conducen a respuestas potencialmente fatales como el shock, la coagulación intravascular diseminada y el consumo de factores del complemento (Puerta y Mateos, 2010). En los hospitales de Estados Unidos, entre el 12.0 y 16.0% de las bacteriemias son causadas por *Escherichia coli* productora de β LEE, sin embargo, se conoce poco acerca de la frecuencia, factores de riesgo y características clínicas de las bacteriemias causadas por este microorganismo productor de β LEE (Rodríguez y col., 2006).

Otras infecciones. También se han recuperado a *Escherichia coli* en casos de artritis séptica, endoftalmítis, tiroiditis supurada, abscesos intraabdominales, peritonitis bacteriana espontánea, abscesos hepáticos, abscesos cerebrales, endocarditis, osteomielitis, prostatitis, sinusitis, tromboflebitis séptica y otras enfermedades (Puerta y Mateos, 2010).

Klebsiella pneumoniae

Generalidades

Entre las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* el segundo género de importancia clínica es *Klebsiella*, siendo *Klebsiella pneumoniae* la especie más estudiada, ya que desempeña un papel importante como agente etiológico de enfermedades infecciosas oportunistas y no oportunistas (Echeverri y Cataño, 2010).

Klebsiella pneumoniae es una bacteria ampliamente distribuida en el ambiente y puede estar presente en las superficies mucosas de mamíferos; en los seres humanos coloniza la nasofaringe y el tracto gastrointestinal (Schwaber y Carmeli, 2008). La tasa de detección en adultos portadores de *Klebsiella pneumoniae* en materia fecal es del 5.0 al 38.0%, y en nasofaringe entre 1.0 y 6.0%; en los niños el estado de portador fecal puede alcanzar el 100.0% (Murray y col., 2007). *Klebsiella* spp., puede causar entre el 3.0 y 7.0% de todas las infecciones nosocomiales que la ubica como uno de los ocho más importantes patógenos hospitalarios (Podschun y Ullmann, 1998).

Patogenia

Klebsiella pneumoniae causa infección en el tracto urinario y neumonía en personas sin enfermedades de base, pero la mayoría de las infecciones son adquiridas en el hospital y/o en pacientes con alguna condición debilitante. Son especialmente susceptibles los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos, neonatos, y pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes mellitus o alcohólicos (CODEINEP, 2010).

Es causa además de bacteriemia, infecciones del sitio quirúrgico, infecciones del tracto biliar, peritonitis y meningitis (López y Robledo, 2007). Los factores de virulencia de *Klebsiella* son la cápsula, presente en todas sus especies, que es capaz de inhibir la fagocitosis y la

endotoxina propia de las bacterias Gram negativas. La transmisión de paciente a paciente por medio del contacto con el personal médico es el principal mecanismo de diseminación de estas infecciones (Valverde y col., 2007).

Infecciones en tracto urinario. La infección del tracto urinario es la condición más común causada por esta bacteria, explicando la segunda causa de bacteriemia por Gram negativos después de *Escherichia coli* (Podschun y Ullmann, 1998).

Klebsiella pneumoniae es una de las causas más frecuentes de infecciones del tracto urinario asociadas a catéter urinario, puede ocasionar hasta un 10.0% de las infecciones urinarias, fundamentalmente en pacientes con obstrucción de las vías urinarias, diabético o con antecedentes de antibioterapia previa no efectiva frente a este microorganismo (Navarro y col., 2002).

Infecciones en tracto respiratorio inferior. Las infecciones del tracto respiratorio inferior son de las más frecuentes dentro del conjunto de las infecciones, tanto entre las adquiridas en el ambiente comunitario como en el medio nosocomial. La neumonía adquirida en la comunidad constituye una causa muy importante de morbilidad y mortalidad (Rosón y col., 2000).

Klebsiella pneumoniae puede causar neumonía primaria adquirida en la comunidad, así como también una neumonía nosocomial. Alrededor del 25.0 al 75.0% de los pacientes con infección pulmonar producen un esputo sanguinolento, espeso y no pútrido. La formación de abscesos y necrosis son más probables en las infecciones por *Klebsiella pneumoniae* que otras neumonías bacterianas. La tasa de mortalidad se ubica entre el 25.0 al 50.0% independientemente de una cobertura antibiótica adecuada y se correlaciona de forma estrecha con el desarrollo de bacteriemia (Itzep, 2005).

Aunque la presentación clásica de la neumonía por *Klebsiella pneumoniae* es una neumonía lobar, casi todos los pacientes con enfermedad pulmonar por *Klebsiella pneumoniae* presentan una bronconeumonía o una bronquitis, con frecuencia adquiridas en el hospital, la

cual llega a representar del 7.0 al 8.0% de las neumonías nosocomiales (Puerta y Mateos, 2010).

Resistencia Bacteriana

La resistencia bacteriana es la capacidad que tiene un microorganismo para desarrollarse en presencia de un antibiótico a dosis terapéuticas (Rubio y col., 2006).

En el siglo XX el descubrimiento de los antibióticos se convirtió en la solución a múltiples enfermedades causadas por agentes bacterianos. Las bacterias como todos los seres vivos exhiben mecanismos biológicos, que las facultan para adecuarse a diversas presiones ambientales y aunque la resistencia a los antibióticos es una expresión natural de la evolución y genética bacteriana, ciertos factores también contribuyen al aumento de la expresión y diseminación de esta característica inherente (Cabrera y col., 2007).

El uso de antibióticos se ha extendido de sobremanera, tanto en el campo de la medicina humana como en veterinaria y agricultura lo que ha traído nuevas dificultades en la lucha frente a las infecciones (García y col., 2011).

Se calcula que más del 50.0% de las prescripciones médicas de antibióticos en los hospitales, se ordenan sin pruebas claras de infección o sin una indicación médica adecuada (Cabrera y col., 2007). Otros factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia son el insuficiente compromiso nacional con una respuesta integral y coordinada al problema; la mala definición en la rendición de cuentas y escasa participación de las comunidades; la inexistencia o debilidad de los sistemas de vigilancia; la incapacidad de los sistemas para velar por la calidad y el suministro ininterrumpido de medicamentos; el uso inadecuado e irracional de los medicamentos (especialmente en la ganadería); las prácticas deficientes en materia de prevención y control de las infecciones; la escasez de medios de diagnóstico, medicamentos y vacunas, así como deficiencias en materia de investigación y desarrollo de nuevos productos (WHO, 2012); las medidas ineficientes para el control de infecciones en los centros hospitalarios (Cabrera y col., 2007); el uso de antibióticos en agricultura y acuicultura ocasiona la presencia

de residuos de antibióticos en la carne de los animales y la selección de bacterias resistentes en los intestinos de los animales de consumo humano, llevan a una exposición directa de los consumidores a estos fármacos (French, 2005); factores del medio como la presencia de bacterias resistentes en nacimientos de agua (Ang y col., 2004); el uso de elementos para limpieza casera contienen sustancias antibacterianas las cuales son semejantes a los antibióticos en su acción y pueden apresurar la resistencia en ciertas cepas (Samaja-Kfoury y Araj, 2003).

Mecanismos de Resistencia

La resistencia antibiótica puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. La resistencia adquirida es variable y es obtenida por una cepa de una especie bacteriana.

Los mecanismos que utilizan las bacterias para defenderse de los antibióticos están en constante evolución. Teniendo en cuenta que las bacterias tienen un arsenal de mecanismos de resistencia a su disposición y que la selección de estos mecanismos puede llevar a falla terapéutica, es importante conocer los mecanismos de resistencia más prevalentes (Tabla 2).

Propagación de la Resistencia

Una vez que la bacteria es resistente al antibiótico es capaz de transmitir su resistencia de forma vertical a su descendencia o de forma horizontal a otras bacterias que pueden ser de distinta especie e incluso género mediante la transferencia del material genético que codifica esa resistencia. Esta última es la forma más común de transmisión de resistencias (Güerri, 2002).

La propagación de forma vertical se produce bajo una selección característica de la evolución Darwiniana, es decir por un principio de selección natural. Una mutación espontánea

en el cromosoma bacteriano puede conferir resistencia a uno o varios antimicrobianos en al menos un miembro de la población bacteriana (Güerri, 2002).

Tabla 2. Principales mecanismos de resistencia al antibiótico.

Alteración de la diana	El antibiótico no reconoce el sitio o hay una hiperproducción del mismo, de manera que no hay antibiótico suficiente para inactivarla.
Disminución del antibiótico en el lugar de acción	Se impide que este llegue a interaccionar con la diana, ya sea dificultando la entrada (alterando la permeabilidad celular) o bien por propiciar la salida (mediante bombas de expulsión).
Inactivación del antibiótico	Mediante la producción de enzimas, como las β -lactamasas que se unen al β -lactámico impidiendo que este realice su función.
Vías metabólicas alternativas	Se desarrollan vías alternas de manera que suplen la diana inhibida por el antibiótico permitiendo al microorganismo vivir con normalidad.
Mutaciones espontáneas	Otra posibilidad es la aparición de mutaciones espontáneas que permiten a los microorganismos que las sufren, resistir la acción del antibiótico y transmitir esta propiedad a otras bacterias. Las mutaciones pueden producirse incluso en ausencia del antibiótico.

La propagación de forma horizontal refiere a la adquisición de genes de resistencia a partir de otro microorganismo no parental. El mecanismo por el cual se establece este tipo de resistencia es variado, pero con frecuencia las bacterias con genes de resistencia donan estos genes a otras bacterias a través de varios procesos de intercambio genético propios de las bacterias. Estos genes se pueden transmitir fuera del propio linaje (intercambio genético con

diferente especie y/o género) (Mindlin y col., 2006). Los mecanismos responsables de esta adquisición son conjugación, transformación y transducción (Tabla 3) (Figura 1) (Güerri, 2002).

Tabla 3. Mecanismos responsables de la forma horizontal.

Conjugación	Transferencia del ADN plasmídico de una bacteria donadora a una bacteria receptora por contacto entre célula y célula (Bello y Fernández, 2006).
Transformación	Intercambio genético producido cuando una bacteria es capaz de captar fragmentos de ADN; de una bacteria lisada, que se encuentran dispersos en el medio donde vive.
Transducción	La transferencia de ADN de una bacteria a otra, se realiza a través de un bacteriófago, que se comporta como un vector intermediario entre las dos bacterias.

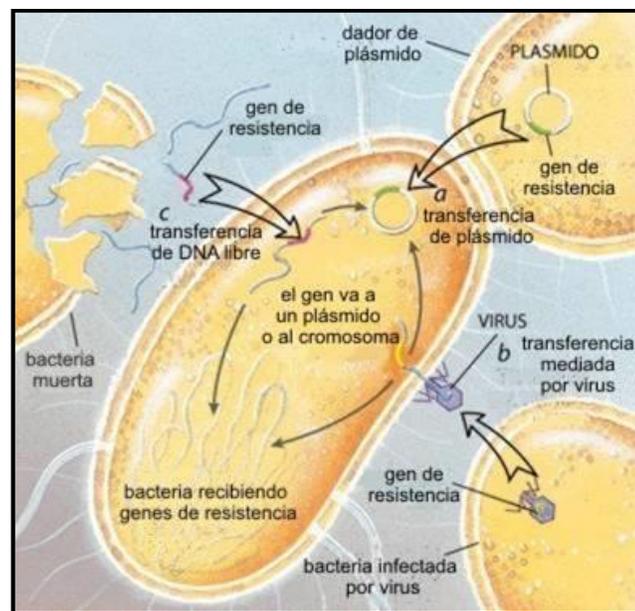


Figura 1. Mecanismos de transferencia genética, de la resistencia bacteriana.

Fuente: Moreno y col.,2009.

Antibióticos

Los antibióticos son sustancias que se emplean en el tratamiento de infecciones. La elección de uno u otro antibiótico en el tratamiento de una infección depende del microorganismo, de la susceptibilidad del microorganismo, la gravedad de la enfermedad, la toxicidad, los antecedentes de alergia del paciente y el costo. En infecciones graves puede ser necesario combinar varios antibióticos (Barrera, 2005).

Mecanismos de Acción y Clasificación

Los antibióticos se dividen en dos grupos principales, antibióticos bactericidas y antibióticos bacteriostáticos.

Los antibióticos bactericidas, los cuales no sólo inhiben el crecimiento bacteriano, sino que desencadenan mecanismos dentro de la célula que conducen a la muerte celular. Su acción, por lo tanto es letal e irreversible sobre las bacterias.

Los antibióticos bacteriostáticos, que inhiben el crecimiento y multiplicación de las bacterias, pero no matan al microorganismo, permitiendo que las propias defensas del huésped puedan eliminar a las bacterias (Tabla 4) (Zamudio, 2009).

Tabla 4. Grupos principales de los antibióticos.

Bactericidas	Bacteriostáticos
β -lactámicos	Macrólidos
Glicopéptidos	Tetraciclinas
Aminoglucósidos	Cloranfenicol
Quinolonas	Clindamicina
Polimixinas	Lincomicina
	Sulfamidas

Los antibióticos se clasifican de acuerdo a su estructura química (β -lactámicos, aminoglucósidos, quinolonas, tetraciclinas, macrólidos, sulfonamidas, entre otros), mecanismo de acción (inhibidores de la síntesis de la pared celular y de la membrana celular, inhibidores de la replicación del ADN, entre otros), espectro de acción (amplio espectro o de espectro reducido) y actividad contra tipos particulares de microorganismos (bactericidas, fungicidas, antivirales, entre otros) (Zamudio, 2009).

β -lactámicos

Los antibióticos β -lactámicos constituyen el principal grupo de antibióticos y el más utilizado para el tratamiento de las infecciones humanas. Estos antibióticos presentan como estructura básica el anillo β -lactámico (Figura 2).

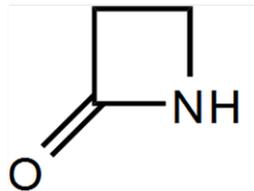


Figura 2. Estructura del anillo β -lactámico.

Fuente: Guzmán y col., 2004

Mecanismo de Acción

Los antibióticos β -lactámicos tienen acción bactericida, actúan impidiendo la síntesis de la pared bacteriana, inhibiendo la síntesis del peptidoglicano, que es el componente que confiere estabilidad y rigidez a la bacteria, protegiéndola de la ruptura osmótica. Estos antibióticos se unen a lo que se denomina genéricamente como proteínas ligadoras de penicilinas (PBP), cuya función es catalizar una serie de reacciones de transpeptidación y carboxipeptidación necesarias para la síntesis del peptidoglicano de la pared bacteriana (Marin y Gudíol, 2003).

Clasificación y Estructura Química

Esta familia de antibióticos viene definida químicamente por la presencia de un anillo β -lactámico, originándose cinco grandes grupos, penicilinas, cefalosporinas, carbapenems, monobactams e inhibidores de β -lactamasas (Marin y Gudiol, 2003).

Estructura química de las penicilinas. Las penicilinas contienen un anillo β -lactámico y un anillo de tiazolidina, formando el ácido 6-aminopenicilánico, el cual deriva de la condensación entre una molécula de valina y una de cisteína, dando lugar al doble anillo característico. Presentan una cadena lateral en la posición 6, que varía de unas penicilinas a otras y es la que define sus propiedades (Figura 3) (Zamudio, 2009).

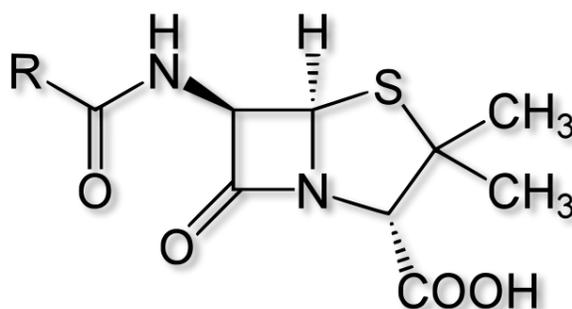


Figura 3. Estructura básica de las penicilinas.

Fuente: Guzmán y col., 2004

Estructura química de las cefalosporinas. La estructura de las cefalosporinas se origina de la unión de un anillo dihidrotiacinico y un anillo β -lactámico; al igual que con las penicilinas, las modificaciones en la cadena lateral dan lugar a las diversas cefalosporinas (Figura 4). Las cefalosporinas se clasifican según su orden cronológico de aparición en cuatro generaciones (Tabla 5) (Zamudio, 2009).

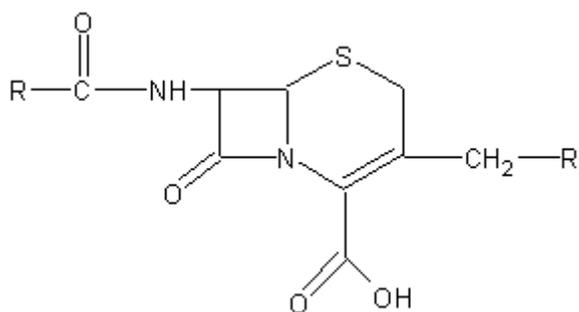


Figura 4. Estructura básica de las cefalosporinas.

Fuente: Guzmán y col., 2004

Tabla 5. Clasificación de las cefalosporinas.

Cefalosporinas de primera generación	Cefalexina	Cefradina
	Cefadroxilo	Cefalotina
	Cefazolina	Cefapirina
Cefalosporinas de segunda generación	Cefaclor	Cefuroxima
	Cefprozil	Cefamandol
	Cefotetam	Cefonicid
	Cefamicinas (cefexitina y cefminox)	
Cefalosporinas de tercera generación	Cefixima	Cefpodoxima
	Ceftibuten	Cefotaxima
	Ceftazidima	Ceftriaxona
Cefalosporinas de cuarta generación	Cefepima	Cefpiroma

Estructura química de los carbapenems. Su estructura básica consiste en la unión de un anillo β -lactámico con un anillo pirrolidínico compartiendo un nitrógeno (Figura 5). Los carbapenems son muy estables frente a β -lactamasas de manera que dentro de los antibióticos β -lactámicos son lo que presentan el espectro más amplio. Los representantes de este grupo son imipenem, meropenem y ertapenem siendo activos frente a bacterias Gram positivas, Gram negativas y anaerobias (Zamudio, 2009).

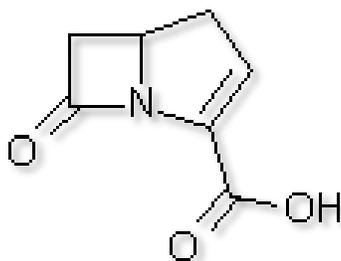


Figura 5. Estructura básica de los carbapenems.

Fuente: Guzmán y col., 2004

Estructura química de los monobactams. Los monobactámicos contienen solo el anillo β -lactámico. Aztreonam (Figura 6) es el único representante de este grupo, siendo activo frente a bacterias Gram negativas aerobias, incluyendo a *Pseudomonas aeruginosa* pero no frente a bacterias Gram positivas ni anaerobios (Zamudio, 2009).

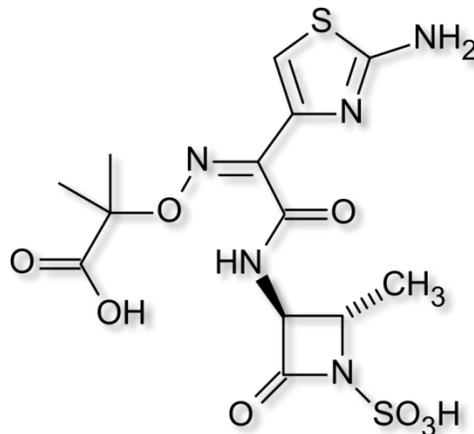


Figura 6. Estructura química del aztreonam.

Fuente: Guzmán y col., 2004

Estructura química de los inhibidores de las β -lactamasas. Dentro de los inhibidores de las β -lactamasas con una estructura β -lactámica se encuentran el sulbactam, el ácido clavulánico y el tazobactam (Figura 7). El sulbactam es una sulfona semisintética del ácido penicilánico. El tazobactam posee un grupo triazol. El ácido clavulánico tiene un núcleo similar al ácido penicilánico de las penicilinas pero se sustituye el átomo de azufre por uno de oxígeno y carece de la cadena lateral acilamino (Zamudio, 2009).

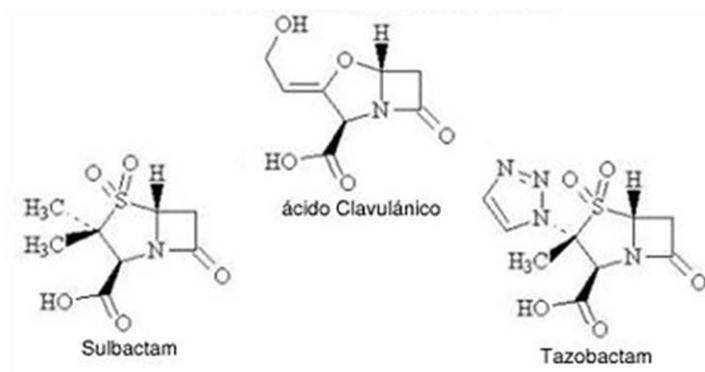


Figura 7. Estructura química de los inhibidores de β -lactamasas.

Fuente: Guzmán y col., 2004

Mecanismos de Resistencia a los Antibióticos β -lactámicos

Estos antibióticos tienen un mecanismo de acción común, inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana (Barrera, 2005). Los mecanismos de resistencia a los antibióticos β -lactámicos son fundamentalmente tres, disminución de la capacidad del antibiótico para alcanzar su diana, síntesis de bombas de expulsión, alteraciones de la diana y producción de β -lactamasas.

La resistencia natural a los antibióticos β -lactámicos es característica de género y/o especie, y es debido a la presencia de factores relacionados con la permeabilidad, afinidad por las PBP y presencia de β -lactamasas cromosómicas propias de estos géneros y especies (Barrera, 2005).

Por fenómenos de mutación, conjugación, transducción o transformación, se modifican o incorporan genes de resistencia que determinarán la resistencia adquirida. A menudo la causa de presentar resistencia a un antibiótico se debe a la combinación de varios factores, lo que hace difícil asociar un patrón de resistencia fenotípico a una causa concreta y viceversa (Barrera, 2005).

β- Lactamasas

Generalidades

Las β-lactamasas son un grupo muy heterogéneo de enzimas que confieren distintos grados de resistencia a los antibióticos β-lactámicos; en la actualidad se conocen más de 700 (López y Echeverri., 2010). Estructuralmente son proteínas compuestas por hojas β plegadas y hélices α, capaces de inactivar diferentes familias de antibióticos β-lactámicos en el espacio periplásmico de las bacterias Gram negativas, antes de que hagan contacto con su blanco molecular (Pérez y col., 2007).

El mecanismo de acción de estas enzimas consiste en hidrolizar el anillo β-lactámico uniéndose a él mediante un enlace no covalente y adicionando una molécula de agua; al hidrolizar el anillo, el antibiótico β-lactámico pierde sus propiedades y es incapaz de unirse a las PBP. Estas PBP tienen actividad de peptidasas en el ensamblaje final del peptidoglicano, componente principal de la pared celular bacteriana, estructura que confiere rigidez a la bacteria; cuando la pared se debilita la bacteria simplemente estalla (Murray y col., 2007; Pérez y col., 2007; Echeverri y Cataño, 2010).

Clasificación de las β - lactamasas

Estas enzimas se han clasificado de muy diversas maneras, según su estructura, su función, el sustrato al que se unen, las sustancias que las inhiben, sus parámetros cinéticos y su expresión, es decir, si están codificadas en el cromosoma o en plásmidos. En la actualidad las dos clasificaciones vigentes son la de Ambler y la de Bush-Jacoby- Medeiros (Paterson y Bonomo, 2005; Pérez y col., 2007).

Clasificación molecular de Ambler. La clasificación de Ambler, propuesta en 1980, se basa en la estructura molecular y la secuencia de aminoácidos de las enzimas, comprendiendo los grupos A, B, C y D. Las β -lactamasas de los grupos A, C y D tienen en su estructura el aminoácido serina y se llaman por ello serina- β -lactamasas; estas enzimas hidrolizan penicilinas, oxacilina y cefalosporinas. Las del grupo B se conocen como metalo- β -lactamasas y se diferencian de los otros tres grupos en que tienen como cofactor un ion de zinc en su estructura, que es necesario para poder ejercer su acción enzimática sobre penicilinas, cefalosporinas y carbapenems pero no sobre monobactámicos (Tabla 6) (Cabrera y col., 2007; Giske y col., 2009; Clavo y col., 2010; López y Echeverri, 2010). Los genes que codifican para estas enzimas se encuentran generalmente en elementos móviles como transposones y plásmidos (Cabrera y col., 2007).

Clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros. Esta clasificación surgió en 1995 y se basa en las similitudes de la función de las enzimas. Las agrupa del 1 al 4, y el grupo 2 se subdivide con letras de la A a la F; de este grupo, la mayoría son inhibidas por el ácido clavulánico; el grupo 2b es el que corresponde a las β LEE (Echeverri y Cataño, 2010; Murray y col., 2007) y los grupos 2f y 3 corresponden a las carbapenemasas (Tabla 7), que están adquiriendo mucha importancia en la actualidad debido a que son β -lactamasas con eficacia catalítica para la hidrólisis de los carbapenems, antibióticos que se tenían como única opción para tratar a los pacientes con infecciones graves causadas por microorganismos productores de β LEE (Clavo y col., 2010).

Tabla 6. Clasificación de β -lactamasas según el sistema de Ambler.

Clase A	Penicilinas (encontrada en <i>Staphylococcus aureus</i>). TEM-1. SHV-1. β -lactamasas cromosomales de <i>Proteus</i> , <i>Klebsiella</i> . Carbapenemasas.
Clase B	Metalo- β -lactamasas requieren un ión bivalente para su actividad (Zinc ²⁺).
Clase C	β -lactamasas usualmente tipo cromosomal llamadas AmpC propias de la mayoría de enterobacterias.
Clase D	β -lactamasas plasmídicas tipo OXA.

Tabla 7. Clasificación funcional de β -lactamasas según el sistema de Bush-Jacoby-Medeiros.

Grupo 1	Cefalosporinas que no son inhibidas por el ácido clavulánico.
Grupo 2	Penicilinas, cefalosporinas y carbapenemasas que generalmente son inhibidas por inhibidores de β -lactamasas como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. Incluye 6 subgrupos que se definen de acuerdo a las tasas de hidrólisis de carbenicilina o cloxacilina (oxacilina) producidas por las penicilinas del Grupo 2.
Grupo 3	Metalo- β -lactamasas que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas, y carbapenemas que son inhibidas por EDTA y no por inhibidores estructuralmente relacionados a los β -lactámicos.
Grupo 4	Penicilinas que no son inhibidas por el ácido clavulánico.

β -lactamasas de Espectro Ampliado (β LEA)

Estas β -lactamasas son capaces de hidrolizar a las aminopenicilinas y frecuentemente, pero no siempre, a los antibacterianos descubiertos posteriormente, como las cefalosporinas de primera generación, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas. Dado que estas β -lactamasas amplían el espectro de hidrólisis de la penicilinas, se las denominó β -lactamasas de espectro ampliado (β LEA) (Casellas, 2011).

TEM-1 (β -lactamasa derivada de la contracción del nombre griego “Temoniera”), TEM-2 y SHV-1 (β -lactamasa derivada de la contracción “Sulfhidril Variable”), son las β LEA mediadas por plásmidos más comúnmente distribuidas en los bacilos gramnegativo y pertenecen al grupo 2b de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros (Clavo y col., 2010).

β -lactamasas de Espectro Extendido (β LEE)

A principios de los ochenta, Shah y Brun-Buisson fueron los primeros en describir en Europa la existencia de β -lactamasas de transmisión plasmídica con capacidad para hidrolizar cefalosporinas de tercera generación, cuando sólo habían transcurrido 2 años desde su introducción al mercado. Estas enzimas, aisladas inicialmente en cepas bacterianas de la familia *Enterobacteriaceae*, se bautizaron como β -lactamasas de espectro extendido (β LEE) y rápidamente se diseminaron en Estados Unidos y el resto del mundo (Cantón y col., 2008; García y col., 2011).

Las β LEE son un grupo de rápida evolución de β -lactamasas que comparten la capacidad de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefpodoxima) y aztreonam, pero no cefamicinas ni carbapenémicos, pero son inhibidas por el ácido clavulánico. También hidrolizan aminopenicilinas (ampicilina, amoxicilina).

Ellos representan el primer ejemplo en el que la β -lactamasa mediada por la resistencia a los antibióticos β -lactámicos fue resultado de cambios fundamentales de los espectros de sustrato de las enzimas (Echeverri y Cataño, 2010). Son una familia de enzimas producidas por bacilos gramnegativos, que en su mayoría derivan de las β -lactamasas clásicas TEM y SHV a partir de una serie de mutaciones puntuales que afectan a su centro activo (García y col., 2011).

Las β LEE se asocian con resistencia a muchos antibióticos como aminoglucósidos, cloranfenicol, trimetropim/sulfametoxazol y quinolonas, lo que lleva a que el clínico tenga pocas opciones para el tratamiento de los pacientes con infecciones causadas por cepas de enterobacterias productoras de β LEE, especialmente cuando se trata de infecciones graves como bacteriemias, neumonías intrahospitalarias o peritonitis. Este panorama es mucho peor y las opciones terapéuticas restantes son pocas cuando se aíslan cepas productoras de carbapenemasas (López y Echeverri, 2010). Estas enzimas confieren resistencia a un gran número de antibióticos de uso común como penicilina, ampicilina, cefalosporinas de cualquier generación (excepto cefamicinas), aztreonam, entre otros (Paterson y Bonomo, 2005).

Actualmente se conocen más de trescientos tipos de β LEE, que se clasifican en base a su secuencia de aminoácidos, la mayoría de ellas descritas por primera vez en países Europeos (Tabla 8) (Cantón y col., 2008).

β LEE tipo TEM. Las siglas TEM se derivan de las iniciales del primer paciente en quien fue aislada una *Escherichia coli* productora de β -lactamasa en 1965 (Clavo y col., 2010). Hoy en día se conocen más de 140 β LEE diferentes de la familia TEM, que generalmente tienen mayor actividad sobre la ceftazidima que sobre la cefotaxima y prevalecen en los Estados Unidos y Europa (Casellas, 2011). Son de codificación plasmídica y transferibles a otras bacterias por conjugación, lo que explicó su rápida dispersión (Casellas, 2011). Es sintetizada con mayor frecuencia por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Bradford, 2001).

Tabla 8. Tipos de β -lactamasas de espectro extendido.

β LEE	β -lactamasa relacionada	País de origen	Especies en las que se detectaron inicialmente
TEM	TEM-1, TEM-2	Francia 1985	<i>Enterobacteriaceae</i>
SHV	SHV-1/LEN	Alemania 1983	<i>Enterobacteriaceae</i>
CTX-M	KLUA	Varios	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp.</i>
OXA	OXA-10	Turquía/Francia	<i>P. aeruginosa</i>
PER		Francia 1991	<i>P. aeruginosa</i>
VEB	PER	Vietnam/Tailandia	<i>E. coli</i>
TLA	CME-1	México 1991	<i>E. coli</i>
GES-1	<i>Y. enterocolítica</i>	Guayana/Sudáfrica	<i>K. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i>
BES	Amp A	Brasil 1996	<i>S. marcescens</i>
SFO	<i>S. fontícula</i>	Japón 1988	<i>E. cloacae</i>
IBC	<i>Y. enterocolítica</i>	Grecia 1999	<i>E. cloacae</i>
BEL	GES-1	Bélgica 2004	<i>P. aeruginosa</i>

β LEE tipo SHV. Este tipo de β LEE es considerada una variante de la TEM, las siglas se derivan de la clasificación inicial como una “variedad sulfhídrico” (Clavo y col., 2010). Hay más de 50 β LEE de tipo SHV, que tienen efecto similar sobre la cefotaxima y la ceftazidima y son de distribución universal. Inicialmente fue de codificación cromosómica, hoy en día es codificada generalmente en plásmidos transferibles (Casellas, 2011). La mayoría de estas enzimas se encuentran en cepas de *Klebsiella pneumoniae*; sin embargo, también se han identificado en *Citrobacter diversus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Clavo y col., 2010).

β LEE tipo CTX-M. Se conocen cerca de 40 tipos de β LEE CTX-M que prevaleció en Sudamérica y Europa del Este (Casellas, 2011). Estas β LEE, que derivan originalmente de las

β -lactamasas cromosómicas de distintas especies del género *Kluyvera*, se caracterizan por conferir resistencia de alto nivel a cefuroxima, cefotaxima y cefepima, incrementando en mucha menor medida la concentración mínima inhibitoria. Son mejor inhibidas por tazobactam que por sulbactam o ácido clavulánico (Clavo y col., 2010).

Se encuentran fundamentalmente en cepas de *Salmonella entérica* serovar *Thyphimurium* y *Escherichia coli*, en otras enterobacterias como *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*, y en otros Gram negativos como *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter hydrophila* y *Vibrio cholerae* (Walther y Hoiby, 2004).

Otras β LEE. Existen otras β LEE, de momento poco frecuentes, que no se relacionan claramente con las familias de β -lactamasas establecidas hasta ahora. Por ejemplo, las de tipo PER, la VEB-1, la CME-1, la SFO-1, la TLA-1, las de tipo GES/IBC (GES-1, GES-2, IBC-1), caracterizadas por hidrolizar a la ceftazidima de forma más eficiente que a otros β -lactámicos (Clavo y col., 2010).

Otro creciente grupo de la familia de las β LEE son las OXA, estas enzimas difieren de las β -lactamasas tipo TEM o SHV en que pertenecen a la clase molecular D y al grupo funcional 2d. Las β -lactamasas clásicas tipo OXA confieren resistencia a oxacilina, cloxacilina, meticilina, ureido y aminopenicilinas y son pobremente inhibidas por el ácido clavulánico, a excepción de OXA-18 (Philippon y col., 1997). Mientras que muchas β LEE han sido descritas en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y otras enterobacterias, las β LEE tipo OXA han sido descritas principalmente en *Pseudomonas aeruginosa*.

Inhibidores de β LEE. Los tres inhibidores de la actividad de las β LEE con aplicación clínica son el ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam. Estos tres inhibidores son eficaces contra las penicilinasas de *Staphylococcus*, y tienen eficacia variable contra las β LEE

cromosómicas de las bacterias Gram negativas. El ácido clavulánico y el tazobactam, tienen mayor actividad contra β LEE transferidas por plásmidos de bacterias Gram negativas que el sulbactam (Pavón y col., 2011).

Bacterias Productoras de β LEE

Escherichia coli y *Klebsiella pneumoniae*, son las principales bacterias productoras de β LEE. *Enterobacter spp.*, al igual que *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii* y *Providencia rettgeri*, producen β -lactamasas cromosómicas inducibles denominadas AmpC que no son inhibidas por ácido clavulánico ni por otros inhibidores de β -lactamasas (Albarado y col., 2009).

***Escherichia coli* Productor de β LEE**

La primera descripción de β -lactamasas en una bacteria, concretamente en *Escherichia coli*, se hizo antes de que el primer β -lactámico (la penicilina) fuese empleado de forma generalizada en la práctica médica (García y col., 2011).

La presencia de *Escherichia coli* con β LEE se asoció inicialmente a brotes nosocomiales en grandes hospitales, principalmente en áreas de cuidados intensivos y quirúrgicas. Sin embargo, los últimos trabajos publicados centran su atención en los aislamientos en infecciones adquiridas en la comunidad, brotes en unidades de cuidados crónicos y asilos, así como en muestras de orina y heces de portadores sanos (Valverde y col., 2004; Gobernado, 2005; Paterson y Bonomo, 2005; Díaz y col., 2009).

En los últimos años se observa un aumento de la resistencia de esta especie frente a los principales antibióticos de uso clínico como ampicilina, sulfametoxazol/trimetoprim, ciprofloxacina, tetraciclina y estreptomina, tanto en cepas de origen clínico, animal como ambiental (Águila y col., 2007; Laroche y col., 2010).

En humanos, el principal reservorio de *Escherichia coli* productora de βLEE es el tracto digestivo, y su transmisión se facilita por el contacto a través de las manos, habiéndose descrito la transmisión de estos microorganismos entre personas en contacto estrecho (Díaz y col., 2009). También se ha considerado que ciertos alimentos de origen animal, principalmente en relación con las aves de corral, podrían ser fuente de transmisión de enzimas βLEE al hombre (Goossens y Grabein, 2005; Lavilla y col., 2008; Smet y col., 2008; Warren y col., 2008).

Perfil de resistencia. *Escherichia coli*, presenta cerca del 80.0% de resistencia frente a ampicilina y más de 50% a cotrimoxazol, según un estudio realizado en Chile. Con respecto al perfil de resistencia de *Escherichia coli* de origen nosocomial, es interesante hacer notar que no hay diferencias significativas respecto de las infecciones comunitarias (Prado y col., 2001).

Estas bacterias Gram negativas poseen en el cromosoma un gen (AmpC) que codifica una β-lactamasa más activa frente a cefalosporinas que frente a penicilina. Muchos bacilos Gram negativos poseen genes reguladores de la producción de esta β-lactamasa AmpC, como *Escherichia coli* (Manzariegos, 2007).

Escherichia coli presenta niveles insignificantes de AmpC, siendo éste su mecanismo natural, estas enzimas pueden tener un papel en el ensamblaje de peptidoglucano o pueden haber evolucionado para defender a la bacteria de los agentes β-lactámicos. La resistencia aparece sólo con agentes que no pueden penetrar en la bacteria fácilmente (Manzariegos, 2007).

Las cepas que expresan niveles de AmpC insignificantes son altamente sensibles y sólo presentan resistencia a sulbactam y a sulfametoxazol/trimetoprim. Las bacterias que presentan moderada producción de AmpC son resistentes a ampicilina, sulbactam, cefalosporinas de primera generación, amikacina y nitrofurantoína; las cepas donde hay hiperproducción de AmpC presentan resistencia a ampicilina, sulbactam, tazobactam, cefalosporinas de primera generación, cefalosporinas de segunda generación, sulfametoxazol/trimetoprim y nitrofurantoína (Manzariegos, 2007).

***Klebsiella pneumoniae* Productora de β LEE**

Klebsiella pneumoniae es uno de los patógenos nosocomiales prevalentes. Desde hace más de 20 años se reconoce en esta bacteria la capacidad de resistir la acción de cefalosporinas de espectro extendido y aztreonam, gracias a la producción de enzimas conocidas como β LEE (Bermejo y col., 2006).

Perfil de resistencia. A los pocos años de la introducción de las cefalosporinas de tercera generación, *Klebsiella pneumoniae* y otros bacilos nosocomiales Gram negativos comenzaron a mostrar β -lactamasas resistentes a cefalosporinas de tercera generación y al monobactámico aztreonam (Patterson, 2008). Todas las cepas de *Klebsiella pneumoniae* son resistentes a ampicilina, debido a la presencia de un gen codificador de β -lactamasa específica de penicilina (Ardila y col., 2009).

De acuerdo La CDC (Center for Disease Control and Prevention), *Klebsiella* spp., es causante del 8.0% de infecciones nosocomiales y del 3.0% de brotes epidémicos y las infecciones nosocomiales de especial cuidado son causadas por cepas resistentes. Desde la

década de 1970 las cepas de *Klebsiella* han sido resistentes a aminoglucósidos, y desde 1982 producen β LEE que les confiere resistencia a cefalosporinas de amplio espectro (Jain y col., 2003).

La importancia de la identificación de las enzimas causantes de tal resistencia en la práctica clínica radica en el manejo y pronóstico de los pacientes con infección por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productora de β LEE (Theoklis y col., 2005).

Otras Bacterias Productoras de β LEE

Las bacterias que más comúnmente desarrollan este fenotipo son *Klebsiella* spp. y *Escherichia coli*, sin embargo, cualquier enterobacteria puede ser productora de β LEE, incluyendo *Citrobacter* spp., *Proteus* spp. y *Enterobacter* (Clavo y col., 2010).

En la siguiente tabla se describen los grupos de enterobacterias productoras de β -lactamasas (Tabla 9) (Clavo y col., 2010).

Tabla 9. Grupo de enterobacterias productoras de β LEE.

Grupo I	<i>E. coli</i> <i>P. mirabilis</i>	<i>Shigella</i>	<i>Salmonella</i>
Grupo II	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	
Grupo III	<i>Enterobacter</i> spp. <i>M. morgani</i> ,	<i>C. freundii</i> , <i>P. stuartii</i>	<i>Serratia</i> spp. <i>P. rettgeri</i>

También bacterias como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* son productoras de β LEE (Cattoir y Poirel, 2007). En *Acinetobacter baumannii* la resistencia a β -lactámicos se relaciona con la producción de diferentes β -lactamasas (AmpC, oxacilinasas, metalo- β -lactamasas), con alteraciones de la permeabilidad y con la expresión de PBP de baja afinidad (Cisneros y col., 2005). En cuanto a *Pseudomonas aeruginosa*, presenta resistencia natural a muchos antimicrobianos (la mayoría de las penicilinas, cefalosporinas de primera generación, segunda generación y muchas de las de tercera generación, tetraciclinas, cloranfenicol, cotrimoxazol, rifampicina), y con gran facilidad desarrolla mutaciones cromosómicas y adquiere material genético que incrementan su resistencia, producen principalmente β -lactamasas de codificación cromosomal (Navon y col., 2005).

Factores de Riesgo

Numerosos autores han evaluado los factores relacionados con la aparición y diseminación de estas cepas (Bermejo y col., 2003). Independientemente de los diseños de esos estudios, los escenarios y la situación epidemiológica, la inmensa mayoría acuerda en considerar que el uso previo de antimicrobianos es un factor de riesgo para la adquisición nosocomial de *Klebsiella pneumoniae* β LEE (+) y *Escherichia coli* β LEE (+).

Los pacientes inmunocomprometidos o debilitados son altamente susceptibles a las infecciones por enterobacterias adquiridas en los hospitales, a partir del ambiente y como consecuencia de procedimientos invasivos, como cateterización, broncoscopía, colposcopia o biopsias quirúrgicas (Pavón y col., 2011), pacientes que fueron tratados previamente con antibióticos también son susceptibles a infecciones causadas por bacterias resistentes (Tabla. 10) (Puerta y Mateos, 2010).

En varios estudios se establecen tres principales factores de riesgo de adquisición de β LEE en pacientes de la comunidad tales como los antecedentes de hospitalización, la

antibioterapia especialmente con β -lactámicos y quinolonas y la colonización gastrointestinal por cepas portadoras de β LEE (Colodner, 2005; Arpin y col., 2005). Otros autores describen nuevos factores de riesgo en pacientes no hospitalizados como diabetes mellitus, ITU recurrentes, edad > 60 años y sexo masculino (Rodríguez y col., 2004; Colodner, 2005).

Tabla 10. Factores de riesgo para infección o colonización con Enterobacterias productoras de β LEE.

Catéter arterial

Catéter venoso central

Tubo de gastrostomía o yeyunostomía

Catéter urinario

Vivir en casas de cuidado crónico o asilo de ancianos

Bajo peso al nacimiento

Cirugía abdominal de urgencia

Colonización gastrointestinal

Tratamiento antibiótico previo

Tratamiento previo con ceftazidima o aztreonam

Enfermedad grave

Ventilación asistida

Estancia prolongada en UCI

Estancia prolongada hospitalaria

Tratamiento de Infecciones por Bacterias Productoras de β LEE

La resistencia bacteriana constituye en la actualidad uno de los mayores problemas de la patología infecciosa, dentro de ésta resistencia se encuentra las β LEE, las cuales poseen un

amplio espectro de inactivación frente a antibióticos β -lactámicos. Los únicos β -lactámicos que mantienen actividad frente a las enterobacterias productoras de estas enzimas son, además de las cefamicinas, como la cefoxitina, las combinaciones de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas y los carbapenémicos como el imipenem y el ertapenem (Clavo y col., 2010).

Además, como ya se ha indicado, los plásmidos que codifican la resistencia a β -lactámicos portan genes de resistencia a otros antibióticos, como el cotrimoxazol, aminoglucósidos y tetraciclinas, y el fenómeno de resistencia cruzada es muy frecuente. Estas cepas son también resistentes, por razones poco conocidas, a las fluoroquinolonas con mayor frecuencia que otras cepas no productoras de β LEE. Por todo ello el tratamiento de las infecciones producidas por bacterias productoras de β LEE entraña una dificultad notable, además no hay ensayos clínicos, controlados y aleatorizados, lo suficientemente amplios para basar un tratamiento empírico y las recomendaciones se basan en pequeñas series clínicas obtenidas en el centro hospitalario (Falagas y col., 2008).

Un estudio realizado en España declara que la tasa de fracasos terapéuticos empleando antibióticos activos in vitro en el contexto de estas infecciones, puede superar el 50.0%. Este comportamiento se ha puesto en relación con el efecto inóculo, por el cual la CMI de los antimicrobianos pueden aumentar de 10 a 100 veces en función de la carga bacteriana, dando lugar a fenómenos de resistencia in vivo a pesar de que los resultados in vitro indiquen que es un aislamiento sensible o de resistencia intermedia (García y col., 2011).

Como consecuencia parece lógico el uso de estos antibióticos activos (carbapenemes y β -lactámico más inhibidor de β -lactamasa) como tratamiento empírico en unidades donde aparezca una alta tasa de este tipo de infecciones. Aunque el uso indiscriminado de ellos ha sido asociado con una emergencia de otros patógenos resistentes como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* (Morosini y col., 2006). Hasta ahora el tratamiento de elección de las infecciones graves por bacterias Gram negativas productoras de β LEE son los carbapenems, siendo imipenem el más estudiado (Echeverri y Cataño, 2010).

Con todo ello, para poder proporcionar un tratamiento empírico correcto es fundamental conocer la distribución local de patógenos, su sensibilidad y sus patrones de resistencia, así como implantar protocolos de actuación donde se recojan todas las posibles circunstancias que faciliten la optimización del tratamiento empírico (factores de riesgo para patógenos resistentes, antibioterapia previa), además de otras medidas de prevención para el control de este tipo de infecciones resistentes (Elliott y col., 2006).

Medidas de Control de la Aparición y Diseminación de la Infección por β LEE

Es importante que los médicos reconozcan las diferentes clases y tipos de β -lactamasas existentes para que se les facilite entender los informes de los laboratorios clínicos sobre β LEE y también que la utilización de cefalosporinas de tercera generación ejerce una presión importante en las bacterias Gram negativas (Cosgrove y Carmeli, 2003; Heritage y Chambers, 2003). Los reportes en la literatura no son concluyentes para determinar si la restricción de las cefalosporinas de tercera generación es suficiente para controlar las infecciones causadas por organismos productores de β LEE (Máttar y Martínez, 2007).

Desde el punto de vista epidemiológico existe una serie de reservorios endógenos que facilitan la diseminación de la resistencia entre las diferentes especies, como son el tubo digestivo, la orofaringe, las heridas colonizadas así como termómetros, geles empleados en ecografía, sondas de oxigenoterapia, jabón líquido, uñas postizas del personal; siendo el principal vector de la infección las manos de los profesionales. Existe una serie de medidas que han resultado eficaces a la hora de reducir la aparición y diseminación de cepas portadoras de β LEE, como son el uso restrictivo de cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas; el aislamiento cutáneo ante la detección de una colonización (habitación individual, uso de guantes y bata, cambio de guantes y lavado de manos con solución antiséptica entre pacientes); la educación sanitaria en materia de prevención del personal; el lavado exhaustivo

de manos incluso con algún producto desinfectante y mejorar la detección de β LEE por parte del laboratorio (Álvarez, 2010).

Epidemiología

El problema epidemiológico de las β LEE es de extraordinaria magnitud. A diferencia de las β -lactamasas cromosómicas, la codificación plasmídica posibilita la diseminación de este mecanismo de resistencia no sólo entre distintas cepas de la misma especie sino también entre diferentes especies bacterianas. Además, las β LEE frecuentemente se encuentran codificadas en transposones o integrones, y estos establecen su asociación con otros determinantes genéticos de resistencia transferibles, como los que conllevan resistencia a otros grupos de antimicrobianos (Clavo y col., 2010).

La aparición de enterobacterias productoras de β LEE ha emergido en las últimas décadas como un problema creciente que dificulta el tratamiento de infecciones producidas por las bacterias portadoras (Giamarellou, 2005) y se registra una mayor morbilidad y mortalidad en los pacientes con infecciones por estas bacterias. Su distribución geográfica es mundial, pero no homogénea (Clavo y col., 2010).

Hasta finales de los años noventa la mayoría de las β LEE (principalmente de tipo TEM y SHV) se aislaban en cepas de *Klebsiella pneumoniae* implicadas en brotes nosocomiales, sobre todo en unidades de cuidados intensivos. Actualmente la atención se centra en el cambio epidemiológico que se está produciendo en cuanto a los tipos de β LEE más prevalentes y su distribución, con mayor presencia en *Escherichia coli* procedente del medio extrahospitalario (principalmente en aislamientos de muestras urinarias) (García y col., 2011).

A modo de esquema, podríamos describir dos situaciones epidemiológicas en pacientes hospitalizados y con riesgo de colonización por β LEE. En lo que se refiere a *Klebsiella*

pneumoniae productora de β LEE, la mayoría de los estudios epidemiológicos la asocian como un microorganismo de adquisición nosocomial, con factores de riesgo similares a los relacionados con la adquisición de otros microorganismos multirresistentes como la comorbilidad del paciente, manipulaciones diagnósticas o terapéuticas y el uso previo de antibióticos. *Klebsiella pneumoniae* productora de β LEE tiene un comportamiento epidémico, por lo que se disemina con mayor frecuencia en unidades de cuidados intensivos y unidades neonatales, donde la población ingresada es más susceptible de adquirir cualquier microorganismo multirresistente. Estos pacientes son sometidos a constantes manipulaciones que incrementan el riesgo de transmisión horizontal, y también a una mayor presión antibiótica, que aumenta el riesgo de selección de esas cepas resistentes e incrementa, a su vez, la presión de colonización en las unidades (Peña y Pujol, 2007).

En cuanto a *Escherichia coli* productora de β LEE, presenta algunas diferencias epidemiológicas frente a la colonización por *Klebsiella pneumoniae* productora de β LEE. En general se considera que la comorbilidad de los pacientes, la presencia de catéter urinario y el previo uso de antibióticos, son factores asociados a un mayor riesgo de colonización por *Escherichia coli* productora de β LEE. Este microorganismo se distribuye entre la población hospitalizada como casos esporádicos y desde el punto de vista molecular suelen ser policlonales (Peña y Pujol, 2007).

Epidemiología Global

Europa. El incremento en el número de aislamientos productores de β LEE ocurrió de forma paulatina, describiéndose principalmente en brotes nosocomiales y grupos seleccionados de pacientes. No obstante, las cifras que se manejan en la actualidad no son nada discretas, ascendiendo a más de 140 β LEE de tipo TEM, más de 50 de tipo SHV (detectadas sobre todo en *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp.) y en torno a 11 de tipo OXA (descritas principalmente en *P. aeruginosa*) dentro de la clase D. En 1989 se describió una nueva familia de β LEE casi de

forma simultánea en 3 países europeos (Francia, Alemania e Italia) y en Argentina siendo la β LEE tipo CTX-M, la cual confiere resistencia preferentemente a cefotaxima. Desde entonces se ha descrito en múltiples especies de Enterobacterias productoras de β LEE (Álvarez, 2010).

Los últimos datos registrados por el European Antimicrobial Surveillance System (EARSS) que se encarga de almacenar las resistencias antibióticas en patógenos invasivos desde 1998, muestran un aumento en la frecuencia de *Escherichia coli* resistente a cefalosporinas 3ª generación en Europa entre 2006 y 2008. En la mayor parte de Europa la prevalencia de *Escherichia coli* con β LEE está entre el 1.0 y el 5.0%, exceptuando Rumanía donde ha bajado un escalón de resistencia, mientras que la frecuencia de cepas resistentes como en Irlanda, Italia y Portugal ha ido aumentando, donde ya se sitúan en una frecuencia del 10.0 y el 25.0% (Álvarez, 2010).

En Europa existe una gran diversidad en cuanto a la prevalencia de β LEE, encontrándonos Rusia con un 50.0% y Polonia con un 40.0%. En España un estudio realizado en el 2000 muestra una prevalencia en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* de 2.7% y 0.5% respectivamente. La prevalencia de β LEE en Europa es más alta que en Estados Unidos pero más baja que en Asia y América del Sur (Hernández y col., 2003; Cantón y col., 2008).

Existen otros tipos de β LEE como son PER, VEB, GES, TLA, BEL, BES, SFO e IBC, los cuales han ido incrementando su prevalencia en todo el mundo (Cantón y col., 2008; Naas y col., 2008).

Norteamérica. En Estados Unidos, la situación es distinta y en las conclusiones del estudio MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) se observa una tendencia a la baja en los aislamientos de cepas productoras de β LEE tanto en *Escherichia coli* como en *Klebsiella pneumoniae* (Livermore y cols., 2007).

El primer reporte de microorganismos productores de β LEE en Estados Unidos ocurrió en 1988. En 1989, se informaron casos de infecciones producidas por variantes SHV y CTX-M

en Canadá y Estados Unidos. En un estudio realizado en el período 1998 - 2002 sobre 6,101 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en UCI obtuvieron un 6.1% de cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación. Mientras que en pacientes comunitarios la tasa fue de 1.8% sobre 12,059 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y 0.4% en *Escherichia coli* sobre un total de 71,448 aislamientos (Paterson y Bonomo, 2005).

En el Sur y Centro América entre 1988 y 1989, se reportaron aislados de *Klebsiella pneumoniae* que albergaban SHV-2 y SHV-5 (Ríos, 2012).

Asia. En 1988 en China son informados aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* portadora de SHV-2 y SHV-5. Recientes estudios realizados en China revelan tasas de producción de β LEE de un 16.0% en *Escherichia coli* y un 17.0% en *Klebsiella pneumoniae*, siendo las β LEE más predominantes el tipo CTX-M. Asia se considera el mayor reservorio de genes bla CTX-M del mundo (Hawkey, 2008).

África y el Medio Este. Se han informado varios brotes de infecciones por organismos portadores de β LEE en África del Sur, pero no se han publicado estudios nacionales. No obstante, en 1998 y 1999 se informó una tasa del 36.1% de aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* portadora de β LEE en un único hospital. También han sido informados aislamientos en Arabia Saudita, Israel y otros países del medio oriente (Paterson y Bonomo, 2005).

Australia. El primer informe sobre β LEE en Australia fue en una cepa de *Klebsiella pneumoniae* resistente a gentamicina. El 5.0% de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en hospitales australianos son portadores de β LEE (Paterson y Bonomo, 2005).

América Latina. Es en 1989 cuando se informa el primer aislamiento de β LEE detectado en América Latina. En la actualidad América Latina tiene la tasa más elevada del mundo, existiendo variaciones dentro de los países que la forman, siendo los de mayor prevalencia Brasil y Chile (Casellas, 2011).

En un estudio reciente se observa que en América Latina, la proporción de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de β LEE es más del 40.0% del total de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas y cerca del 20.0% de las cepas de *Escherichia coli* de la comunidad son resistentes a fluoroquinolonas (Casellas, 2011).

Un estudio de vigilancia sobre resistencia antimicrobiana en América Latina, reportó que la frecuencia de β LEE obtenida en cepas de Argentina, Chile, Brasil, Colombia, México y Uruguay fue de 41.8% (136/325) en *Klebsiella pneumoniae* y de 10.3% (64/620) en *Escherichia coli* (Morales y col., 2005).

En Colombia, se hizo un estudio en 8 hospitales y se analizó la prevalencia y susceptibilidad a antibióticos en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de β LEE. Los resultados mostraron una prevalencia de 34.8% de *Klebsiella pneumoniae* en la unidad de cuidados intensivos; también se encontraron bacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación o aztreonam, así como resistencia asociada con aminoglucósidos, ciprofloxacina y piperacilina/tazobactam (Cabrera y col., 2007).

Las β LEE son un problema de salud pública con proporciones alarmantes de prevalencia en América Latina que alcanza tasas preocupantes en Colombia, Guatemala, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile, Panamá y Brasil (Winokur y col., 2001). La producción de β LEE en estos países mostraron variaciones marcadas de un país a otro, con rangos entre un 5.0 a un 73.0% (Tabla 11) (Winokur y col., 2001).

Tabla 11. Prevalencia de β LEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* en América Latina.

País	Microorganismos		
	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	β -lactamasa
Argentina	5.0%	57.0%	SHV-2, -5, CTX-M-2, PER-2
Brasil	12.0%	38.0%	CTX-M-8, SHV-5
Chile	22.0%	73.0%	SHV-5, -2
Colombia	27.0%	44.0%	SHV-5, -2, CTX-M-12
Costa Rica	7.0%	32.0%	SHV-5, -4
Ecuador	27.0%	26.0%	SHV-5, -4
Guatemala	27.0%	52.0%	SHV-5, -4
México	28.0%	56.0%	TLA-1, SHV-5, -12
Perú	63.0%	25.0%	SHV-5, -2, -12
Uruguay	7.0%	38.0%	SHV-5, -2, TEM-144
Venezuela	32.0%	63.0%	SHV-5, -2

México. En México, la red nacional de vigilancia de resistencia antimicrobiana, ha mostrado un incremento en la frecuencia con que aparecen cepas resistentes de *Klebsiella pneumoniae* de origen nosocomial a cefalosporinas de tercera generación de poco más del 45.0% en los datos del 2001 (Alpuche y Daza, 2002), lo que sugiere que la producción de β LEE podría ser un grave problema en los bacilos Gram negativos de origen nosocomial en nuestro país.

En un estudio realizado en el Hospital Infantil de Hermosillo, Sonora, se analizaron 1,711 muestras, un 54.0% (N=918) de los aislamientos fueron confirmados como enterobacterias productoras de β LEE (Navarro y col., 2005), en este mismo hospital se realizó un estudio exploratorio del que resultó una proporción del 5.0% de cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de β LEE. Posteriormente en el año 2008 - 2009 se realizó un trabajo por parte de la Universidad de Sonora en el mismo hospital, detectándose un 19.0% de

cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β LEE, mostrando un notable incremento en la producción de estas enzimas respecto al 2005 (Echeverri y Cataño, 2010).

En los últimos años las β LEE han pasado de ser una interesante observación científica, a una realidad de gran importancia médica, los hospitales y otros centros de asistencia social están luchando contra los organismos resistentes a los antibióticos (Livermore, 2012).

Históricamente, los patógenos resistentes a los antibióticos han sido un problema particular en hospitales, especialmente en la unidad de cuidados intensivos, sin embargo, es claro que el dilema también comienza a manifestarse en infecciones comunitarias. Los bacilos Gram negativos comunitarios productores de β LEE han sido detectados con mayor frecuencia en internos, en asilos de ancianos y varios estudios sugieren que es la única subpoblación en riesgo para la colonización e infección por estos patógenos (Itzep, 2005).

Detección de Microorganismos Productores de β LEE

En el laboratorio de microbiología es imprescindible la detección de aislamientos de enterobacterias productoras de β LEE. La detección precoz de estas cepas es importante para instaurar el tratamiento adecuado y las medidas de aislamiento de los pacientes, necesarias para evitar la diseminación (Mazariegos, 2007).

Técnicas de Tamizaje de Producción de β LEE

Lo primero es detectar fenotipos compatibles con la presencia de β LEE realizando un análisis del perfil de sensibilidad a los diferentes antimicrobianos, siguiendo los criterios habituales de lectura interpretada del antibiograma (Livermore y Brown, 2001).

El CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) recomienda utilizar métodos de tamizaje seguidos de métodos de confirmación. Los aislamientos sospechosos son aquellos que presentan resistencia al menos una cefalosporina de 3ª generación y/o al aztreonam.

Método de disco-difusión. Con este método se puede detectar la producción de β LEE en *Escherichia coli* usando antibióticos como cefpodoxima, ceftazidima, aztreonam, cefotaxima o ceftriaxona. Utilizando más de uno de estos agentes se aumenta la sensibilidad (Figura 8). Se sospecha de la presencia de β LEE cuando el diámetro del halo de inhibición en los antibióticos descritos son de la siguiente manera: cefpodoxima (≤ 17 mm), ceftazidima (≤ 22 mm), aztreonam y cefotaxima con (≤ 27 mm), o ceftriaxona (≤ 25 mm).

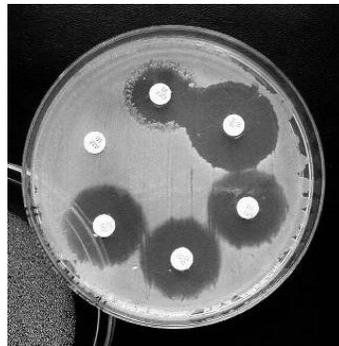


Figura 8. Método de disco-difusión.

Fuente: De cueto, 2005.

Método de susceptibilidad antimicrobiana por dilución. El CLSI propone el método de dilución como tamiz para la detección de β LEE en *Escherichia coli*. Se sospecha la presencia de β LEE cuando la CMI para cefpodoxima es $\geq 8\mu\text{g/mL}$ (Figura 9).

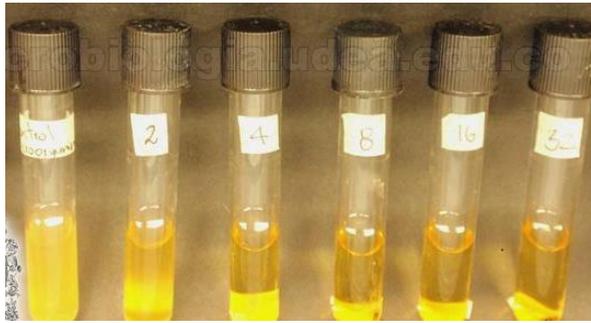


Figura 9. Prueba por dilución en caldo.

Fuente: Murray, 2007.

Técnicas Fenotípicas Confirmatorias de Producción de β LEE

Los métodos fenotípicos confirmatorios se fundamentan en la inhibición de las β LEE por altas concentraciones de clavulanato de potasio o ácido clavulánico.

El CLSI recomienda usar discos de cefalosporinas con y sin ácido clavulánico. Una diferencia de ≥ 5 mm entre el halo de inhibición del disco de cefalosporina y su respectivo disco cefalosporina/ácido clavulánico confirma la existencia de β LEE. También se puede utilizar el método de microdilución en caldo, en este caso una diferencia ≥ 3 diluciones entre la CMI de la cefalosporina probada sola y con ácido clavulánico confirma la presencia de β LEE.

Técnica de doble difusión con discos. Esta técnica consiste en colocar un disco de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 μ gr) en el centro de una placa de Mueller-Hinton a una distancia de 20mm de otros discos con ceftazidima (30 μ gr), cefotaxima (30 μ gr), ceftriaxona (30 μ gr) y/o aztreonam (30 μ gr). La distorsión en algún halo de inhibición pone de manifiesto la presencia de β LEE (Figura 10).

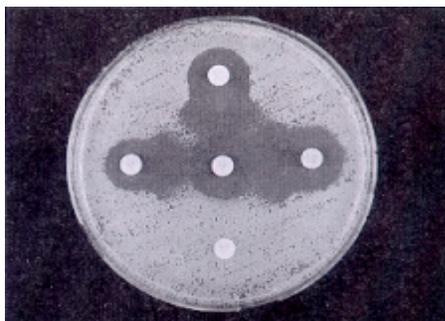


Figura 10. Método confirmatorio. Doble difusión con discos.

Fuente: De Cueto, 2005.

Concentración mínima inhibitoria (CMI) en caldo. Esta técnica utiliza las cefalosporinas (ceftazidima, cefotaxima) con la adición de una concentración de 4 $\mu\text{gr/mL}$ de ácido clavulánico; una disminución en la CMI de ≥ 3 diluciones dobles de ceftazidima y cefotaxima en combinación con el ácido clavulánico comparada con la CMI de las cefalosporinas sin el inhibidor confirma la producción de βLEE (Pfaller y Sagreti, 2006).

Doble difusión con y sin ácido clavulánico de potasio. Esta técnica es recomendada para confirmar la producción de βLEE , siguiendo los lineamientos propuestos para enterobacterias por el CLSI, en medio de Agar Mueller-Hinton con el método de desarrollo o una suspensión directa de colonias (equivalentes a un estándar de 0,5 McFarland) utilizando discos de cefotaxima y ceftazidima con y sin ácido clavulánico incubando a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 16-18 horas (Figura 11) (CLSI, 2011). Un incremento en el halo de inhibición $\geq 5\text{mm}$ en el disco con ácido clavulánico en relación al que no lo contiene, se interpretará como producción de βLEE .

E-test. Son tiras impregnadas con antibióticos, poseen una excelente sensibilidad y especificidad para detectar y confirmar las βLEE . En este método se utilizan tiras con

ceftazidima y ceftazidima/ácido clavulánico y cefotaxima y cefotaxima/ácido clavulánico para detectar la producción de β LEE (Figura 12) (Mattár y Martínez, 2007).



Figura 11. Método confirmatorio. Doble difusión con y sin ácido clavulánico de potasio.

Fuente: De cueto, 2005.

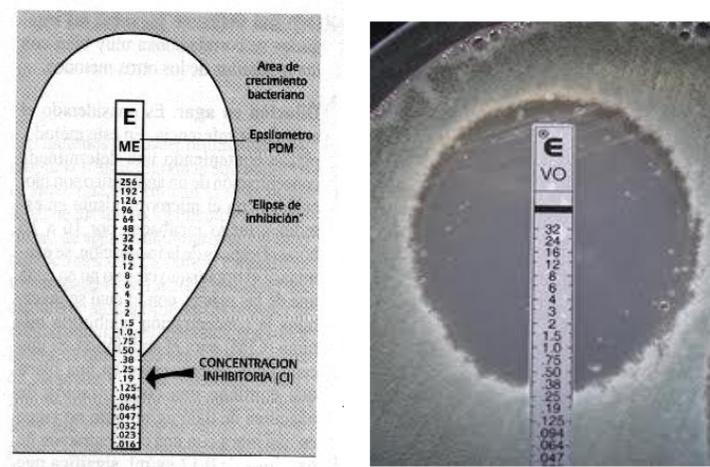


Figura 12. Método E-test.

Fuente: De cueto, 2005.

Pruebas automatizadas. Existen pruebas confiables el sistema Micro-Scan ESBL plus (Dade Behring, Ca, USA) permite confirmar las β LEE en *Klebsiella* spp. y *Escherichia coli*. También está disponible la tarjeta Vitek ESBL (bioMérieux, Durham, NC, USA), que permite la detección inicial de β -lactamasas por la resistencia a cualquier cefalosporina de amplio espectro y el reporte de resistencia extendida a todas las cefalosporinas (Tzelepi y col., 2000; Sanders y col., 2002; Pfaller y Sagreti, 2006).

Tanto en las pruebas de tamizaje como las de confirmación de β LEE, no debe usarse un solo antibiótico como representante del grupo de las cefalosporinas, ya que existen β LEE que hidrolizan preferentemente un antibiótico y otro no. En este sentido, algunos autores (Mattár y Martínez, 2007) han sugerido que la resistencia a ceftazidima se considere como un importante marcador de β LEE. Sin embargo, aunque esto podría aplicarse para Norte América y Europa (Jacoby y Munoz, 2005) donde la mayoría de microorganismos productores de β LEE son resistentes a este antibiótico (β LEE tipo TEM), recientemente en estas zonas han sido encontrados microorganismos productores de β LEE que hidrolizan más eficientemente cefotaxima que ceftazidima (β LEE tipo CTX-M) (Oliver y col., 2001; Jacoby y Munoz, 2005). Éstas últimas se encuentran al parecer mayoritariamente distribuidas en Suramérica (Mattár y Martínez, 2007).

Métodos bioquímicos. Entre estos métodos están el isoelectroenfoco, el análisis del perfil de antibióticos y la cinética enzimática. El más usado es el isoelectroenfoco el cual permite conocer el punto isoeléctrico (pI) de las β LEE, su limitación actual se debe a la existencia de diferentes β LEE con pI idéntico. Las β LEE tipo TEM poseen valores de pI entre 5.2 y 6.5, las SHV entre 7 y 8.2 y las CTX-M entre 7.6 y 9. Las β LEE tipo PER poseen pI similares al de las β LEE tipo TEM (Jacoby y Munoz, 2005).

Métodos moleculares. La PCR es una técnica relativamente fácil de realizar y está bien estandarizada, esta técnica utiliza “iniciadores” específicos para detectar mutaciones puntuales

bajo ciertas condiciones estrictas del laboratorio. Permite la identificación de todas las β LEE existentes especialmente las más prevalentes en Latinoamérica como TEM, SHV y CTX-M (Mattár y Martínez, 2007). Otras técnicas moleculares han sido introducidas recientemente como la técnica de PCR-RFLP (Restriction fragment length polymorphisms) o análisis del polimorfismo de los fragmentos largos de restricción con diferentes enzimas del producto de PCR, es utilizada principalmente con la familia SHV (Mattár y Martínez, 2007).

Sin embargo, dado el alto número de variantes β LEE ninguna de estas técnicas asegura la identificación final de las β LEE al menos que se realice la secuenciación de las enzimas, que continua siendo el método de referencia para la identificación plena de las β LEE (Pfaller y Sagreti, 2006). Sin embargo toda cepa de *Klebsiella pneumoniae* o *Escherichia coli* en la que se confirme la producción de β LEE debe informarse como resistente a cefalosporinas, penicilinas y aztreonam, independientemente de los resultados de las pruebas de sensibilidad (Giamarellou, 2005).

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de Estudio y Tamaño de la Muestra

Durante el período de 01 de Febrero al 31 Julio del 2012 se recolectaron 473 aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, identificadas en el Laboratorio Clínico del Centro Médico Dr. Ignacio Chávez (ISSSTESON), aisladas de pacientes hospitalizados y de pacientes no hospitalizados.

El subcultivo se acompañó de una copia del informe del laboratorio con la que se registró la identificación del microorganismo, el servicio hospitalario, el sitio anatómico de donde se tomó la muestra, así como la sensibilidad y resistencia a los antibióticos (Figura 13). Estos aislamientos fueron conservados en caldo BHI con glicerol (15.0%) a -20°C para posteriormente ser reactivadas y ensayadas en su producción de β LEE.

Identificación de los Aislamientos y Resistencia a los Antibióticos

El aislamiento del microorganismo se realizó en el laboratorio del Centro Médico Dr. Ignacio Chávez (CMIC), utilizando métodos de cultivo tradicional con medios diferenciales para Enterobacterias tales como Mac Conkey, ENDO y EMB incubando a 37°C por 24hrs en aerobiosis. La identificación y las pruebas de susceptibilidad se llevaron a cabo en el Laboratorio Clínico del CMIC utilizando el sistema Vitek2 (bioMérieux). Mientras que la detección fenotípica de β LEE se realizó en el Laboratorio de Análisis Clínicos e Investigación de la Universidad de Sonora (LACIUS) del Departamento de Ciencias Químico Biológicas.

Nº de Cliente:

Informe clínico

Editado 06-feb-2012 10:08 MST

Nombre del paciente: ENCINAS MORENO JOSEFINA

Nº paciente: 2056402

Localización: EXTERNO

Médico: X1895 ZAPIEN HURTADO

Nº de examen: 020212181

Nº de aislamiento: 1

Pb BLEE

Organismo seleccionado: Escherichia coli

Origen: UROCULTIVO

Recogida: 02-feb-2012

Comentarios:	
--------------	--

Información de sensibilidad			Tiempo de análisis: 7,25 horas		Estado: Final	
Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación	
BLEE	POS	+	Meropenem	<= 0,25	S	
Ampicilina	>= 32	R	Amicacina	4*	S	
Ampicilina/Sulbactam	>= 32	R	Gentamicina	<= 1	S	
Cefazolina	>= 64	R	Tobramicina	>= 16	R	
Ceftriaxona	>= 64	R	Ciprofloxacino	>= 4	R	
Cefepima	2	*R	Moxifloxacino	>= 8	R	
Aztreonam	16	*R	Tigeciclina	<= 0,5	S	
Ertapenem	<= 0,5	S	Nitrofurantoína	<= 16	S	
Imipenem	<= 1	S	Trimetoprima/Sulfametoxazol	>= 320	R	

+ = Antibiótico deducido * = AES modificado ** = Usuario modificado

Conclusiones de AES	
Nivel de confianza:	Coherente tras corrección
Fenotipo:	AMINOGLUCÓSIDOS TOB NET AMI RESISTENTES (AAC(6'))
	BETA-LACTÁMICOS BLEE (SIMILAR A CTX-M), BETA-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO

Figura 13. Informe de resultados del laboratorio del CMIC.

Detección Fenotípica de Producción de β LEE

Para la detección fenotípica de producción de β LEE se empleó el método de sinergia de doble disco con y sin ácido clavulánico (CLSI 2011), siguiendo los lineamientos propuestos por el CLSI. La superficie de una caja de Petri con agar Mueller-Hinton se sembró masivamente con un inóculo bacteriano previamente igualado en su turbidez con el estándar 0.5 de McFarland.

Posteriormente se colocaron discos de cefotaxima (CTX 30 μ gr/mL) y certazidima (CAZ 30 μ gr/mL) con y sin clavulanato de potasio (10 μ gr/mL). Las placas se incubaron a 35°C por 16-18 horas (CLSI, 2011). Un aumento igual o mayor a 5 mm en el diámetro del halo de inhibición en el disco con clavulanato en relación al que no lo contiene, se interpretó como producción de β LEE. Se utilizaron las cepas controles *Escherichia coli* ATCC 25922, (no productora de β LEE) y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (productora de β LEE).

Análisis Estadístico.

Se determinó la chi cuadrada o la prueba exacta de Fisher utilizando el paquete estadístico NCSS. Se consideró significativo el valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Aislamientos Totales

Durante el período de estudio, se obtuvieron un total de 473 aislamientos, 415 (88.0%) fueron identificados como *Escherichia coli* y 58 (12.0%) como *Klebsiella pneumoniae* (Figura.14).

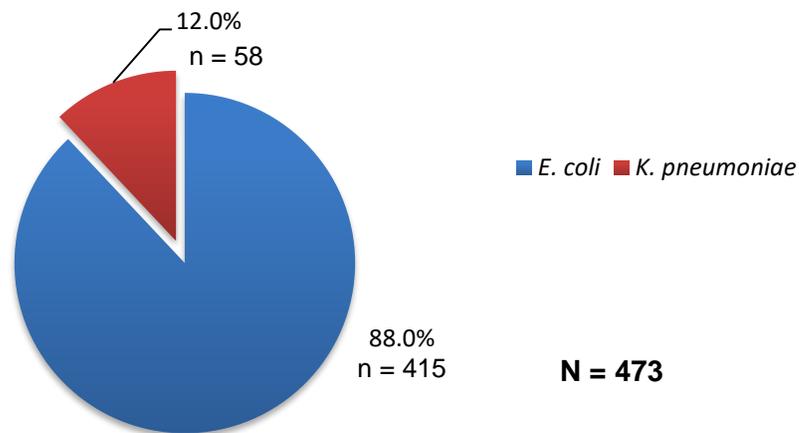
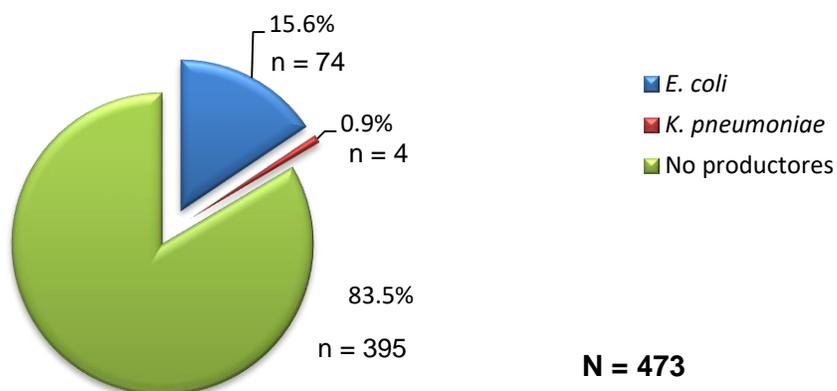


Figura 14. Aislamientos totales de *E. coli* y *K. pneumoniae* en el CMIC, Hermosillo, Sonora, México. Febrero-Junio 2012

Prevalencia de Productores de β LEE

De los 473 aislamientos bacterianos del presente estudio, 78 (16.5%) fueron productores de β LEE. Tomando en cuenta los aislamientos totales, 74 aislamientos de *Escherichia coli* fueron

productores de β LEE (15.6%), mientras que de *Klebsiella pneumoniae* el 0.9% (4/473) de los aislamientos fueron productores de β LEE (Figura 15).



Porcentaje de la prevalencia de los microorganismos productores de β LEE en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México, Febrero – Junio 2012.

En la Tabla 12 se muestra el porcentaje de prevalencia de los aislamientos productores de β LEE comparados con la prevalencia del estudio realizado en el 2008 – 2009. No se presentó diferencia significativa entre la prevalencia encontrada en el presente trabajo (16.5%) en relación a un estudio anterior (14.0%) ($p=0.15$).

En relación a los aislamientos productores de β LEE por especie, se encontró una prevalencia de *Escherichia coli* productora de β LEE de 18.0% (74/415), mientras que la prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* productora de β LEE fue de 7.0% (4/58) (Figura 16, 17).

Tabla 12. Prevalencia de los aislamientos productores de β LEE en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México.

	AÑO		<i>p</i>
	2008 – 2009	2012	
Total de aislamientos (N) (<i>E. coli</i> + <i>K. pneumoniae</i>)	988	473	
Productores de β LEE (n)	315	78	
Porcentaje (%)	14.0	16.5	0.15

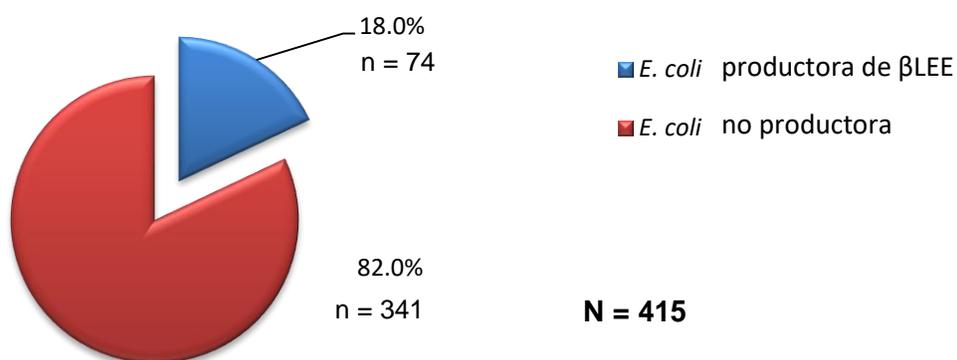


Figura 16. Porcentaje de la prevalencia de *E. coli* productores de β LEE en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México. Febrero – Junio 2012.

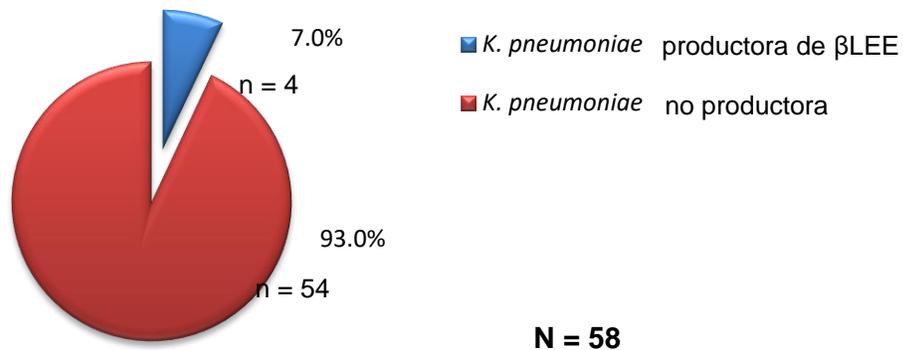


Figura 17. Porcentaje de la prevalencia de *K. pneumoniae* productores de β LEE en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México. Febrero – Junio 2012.

El sistema de vigilancia SENTRY (Antimicrobial Surveillance Program) informa una prevalencia entre el 45.0 y el 8.5% en América Latina, 7.6 y 3.3% en Estados Unidos y 22.6 y 5.3% en Europa para *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β LEE respectivamente, (Winokur y col., 2001). Estudios realizados en Francia (Champs y Sirot, 2000) en 1990, 1991, 1996 y 1998 encontraron en *Escherichia coli* prevalencias de producción de β LEE del 1.5%, 0.9%, 0.1% y 0.2% respectivamente. Nuestros resultados indican que la prevalencia en el CMIC es mayor que los encontrados en Francia obteniendo 15.6% y 7.0% para *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* respectivamente. En este estudio no se detectó un incremento significativo en la prevalencia total de *Escherichia coli* y de *Klebsiella pneumoniae* productoras de β LEE en el CMIC, en comparación con un estudio realizado durante el 2008 – 2009 en el mismo hospital (Tabla 13).

Miembros del grupo BICS (Sociedad Belga para el Control de Infecciones) recomiendan que los hospitales deben monitorear el nivel de resistencia e incidencia de nuevos casos (BICS, 2008). La CDC emitió un listado de las precauciones generales que nos permitirán prevenir la

transmisión y la diseminación de microorganismos. Esas precauciones deberán seguirlas todos los trabajadores en contacto con los pacientes, el cumplimiento de estas medidas reduce el riesgo de transmisión entre pacientes de organismos multirresistentes a múltiples fármacos (CDC, 2009).

Sin embargo, durante un brote es mejor estar en contacto con la persona a cargo de la antibioterapia. El uso de antibióticos deberá restringirse, en particular para antibióticos cuyo uso ha aumentado antes del brote o cuyo uso se asocia con un factor de riesgo individual por estar colonizado/infectado por la cepa epidémica. La antibioterapia empírica deberá adaptarse al fenotipo del antibiótico de la especie epidémica con el fin de evitar la presión de selección. Dada la relación entre la presión del antibiótico y la ecología de resistencia, es aconsejable revisar la política de antibióticos de la unidad con el fin de prevenir un brote en el futuro (BICS, 2008).

Ante todo esto se han establecido medidas de control en la diseminación de cepas productoras de β LEE, las cuales se basan en 3 puntos fundamentales como la vigilancia microbiológica, vigilancia clínico-epidemiológica y política de antibióticos, si bien otras medidas como la descontaminación intestinal selectiva o la aplicación exclusiva de medidas de barrera se han implementado con diferente grado de éxito (Peña y Pujol, 2007).

Tabla 13. Prevalencia en aislamientos productores de β LEE en 2008 y 2012, en el CMIC. Hermosillo, Sonora, México.

Microorganismo	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		
	Año	2008 – 2009	2012	2008 – 2009	2012
Total de aislamientos (N)		894	415	94	58
Total de aislamientos productores de β LEE n (%)		134 (15.0%)	74 (15.6%)	1 (1.0%)	4 (7.0%)
Prevalencia (p)		0.19		0.05	

Prevalencia de Aislamientos Productores de β LEE por Servicio Hospitalario

El estudio indicó que el servicio hospitalario con mayor número de aislamientos productores de β LEE fue el servicio de consulta externa (pacientes no hospitalizados), seguido del servicio de pediatría y cuidados intensivos. Comparando este estudio con el estudio realizado durante el 2008 – 2009 no se detectaron cambios en la prevalencia de aislamientos β LEE por servicio hospitalario (Tabla 14).

En nuestro estudio encontramos un porcentaje mayor de aislamientos a partir de pacientes no hospitalizados que en muestras de pacientes hospitalizados. Siendo, en el hospital, el área de pediatría el más afectado. En el estudio anterior 2008 - 2009 también se aisló con mayor prevalencia *Escherichia coli* productora de β LEE. En los últimos años se ha detectado un aumento de enterobacterias portadoras de β LEE en el ámbito comunitario siendo muy importante el papel que juegan los laboratorios de microbiología en su detección y control (Pitout y Nordmann, 2005).

Prevalencia de Aislamientos Productores de β LEE por Sitio Anatómico

En los aislamiento totales de nuestro estudio, se encontró mayor porcentaje de *Escherichia coli* 88.0% que de *Klebsiella pneumoniae* 12.0%, ya que es la principal causante de infecciones urinarias, por esta misma razón se encontró mayor porcentaje de aislamientos en el tracto urinario (75.7%, viéndose más afectado el género femenino). En el estudio realizado en el CMIC en los años 2008 - 2009 se encontró un porcentaje semejante al de este estudio en los aislamientos totales de los dos microorganismos estudiados con un 90.0% en *Escherichia coli* (894) y 10.0% en *Klebsiella pneumoniae* (94).

Tabla 14. Distribución y comparación de aislamientos productores de β LEE por servicio hospitalario en el CMIC, Hermosillo, Sonora, México.

Servicio Hospitalario	<i>E. coli</i> (N=134) 2008 - 2009 n(%)	<i>E. coli</i> (N=74) 2012 n(%)	<i>p</i>	<i>K. pneumoniae</i> (N=1) 2008 - 2009 n(%)	<i>K. pneumoniae</i> (N=4) 2012 n(%)	<i>p</i>
No hospitalizado	92 (68.7)	54 (73.0)	0.78	0.0	3 (75.0)	0.40
Cirugía	10 (7.5)	2 (3.0)	0.18			
Urgencias	10 (7.5)	4 (5.0)	0.59			
Medicina Interna	6 (4.5)	4 (5.0)	0.77			
UTI	5 (3.7)	0.0	0.09			
Otros*	5 (3.7)	0.0	0.09			
Pediatría	3 (2.2)	6 (8.0)	0.058	1 (100.0)	0.0	0.12
UCI	3 (2.2)	3 (4.0)	0.46	0.0	1 (25.0)	0.62
Hemodiálisis	0.0	1 (1.0)	0.18			

Otros*= Ortopedia, Ginecología, Neonatología.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

UTI: Unidad de Terapia Intermedia

Las IVU son causadas principalmente por *Escherichia coli*, estas bacterias se originan regularmente del tracto digestivo. Cuando las bacterias colonizan la uretra, pueden avanzar hacia la vejiga y causar una infección. En la mayoría de los casos, los aislamientos de *Escherichia coli* productores de β LEE son considerados comensales o colonizadores en el TGI y en el tracto genital (Rondón y col., 2007). Son cada vez más los informes del hallazgo comunitario de *Escherichia coli* uropatógena productora de β LEE (Hérendez y col., 2003). En Turquía (Coque y col., 2008), se observó una prevalencia de 21.0% en el aislamiento de *Escherichia coli* productora de β LEE uropatógena comunitaria. En Europa, los productores de β LEE son causantes frecuentes de infecciones en sangre, tracto urinario, tracto respiratorio, piel y tejido blando. En Canadá (Mulvey y col., 2004), se informó que la infección urinaria hospitalaria es donde frecuentemente se aíslan *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β LEE.

Comparado con el estudio realizado en el 2008 - 2009 en el CMIC se obtuvo una diferencia significativa en la prevalencia de aislamientos de productores de β LEE por sitio anatómico, encontrándose un aumento en el número de aislamientos a partir de piel y tejido blando. Las infecciones de piel y tejidos blandos son frecuentes y su gravedad es variable. En los últimos años, han aparecido en la comunidad infecciones cutáneas por gérmenes multirresistentes, principalmente *Staphylococcus aureus* meticilina resistente, *Streptococcus pyogenes* resistente a eritromicina y Enterobacterias productoras de β LEE (IDSA, 2008). En la Tabla 15, se muestra la frecuencia de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en los dos estudios según el sitio anatómico de colonización o infección.

Distribución de los Aislamientos Productores de β LEE por Género y Edad

En nuestro estudio un 73.0% de los pacientes fueron mujeres y es en el intervalo de los 40 a 79 años donde se presentó el mayor porcentaje de mujeres y hombres afectados por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β LEE. Estos resultados coinciden

parcialmente con otro realizado en España (Hérendez, 2010), donde se detectó que un 65.0% de los pacientes infectados o colonizados por microorganismos productores de β LEE fueron mujeres y que las edades en las que se encontró mayor porcentaje de hombres y mujeres afectados por estas bacterias osciló entre los 80-90 años. En relación a la edad y género, los microorganismos productores de β LEE fueron aislados con mayor frecuencia en pacientes con edades que oscilaron entre 40 a 49 años y de 70 a 79 años (Figura 19 y 20), predominando el género femenino (Figura 18).

Tabla 15. Frecuencia de aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de β LEE, por sitio anatómico, en pacientes hospitalizados y no hospitalizados en el CMIC, Hermosillo, Sonora, México.

Sitio anatómico	<i>E. coli</i>		<i>p</i>	<i>K. pneumoniae</i>		<i>p</i>
	(N=134) 2008 - 9 n(%)	(N=74) 2012 n(%)		(N=1) 2008 - 9 n(%)	(N=4) 2012 n(%)	
Tracto urinario infectado o colonizado	103 (77.0)	56 (75.7)	0.94	1 (100.0)	2 (50.0)	0.67
Piel y tejido blando	19 (14.0)	3 (4.0)	0.03			
Tracto genital	5 (4.0)	8 (11.0)	0.06	0 (0.0)	1 (25.0)	0.62
Cáteter intravascular	4 (3.0)	3 (4.0)	0.69			
Otros*	3 (2.0)	3 (4.0)	0.46	0 (0.0)	1 (25.0)	0.62
Sangre	0 (0.0)	1 (1.3)	0.18			

Otros*: Líquido peritoneal y abdominal.

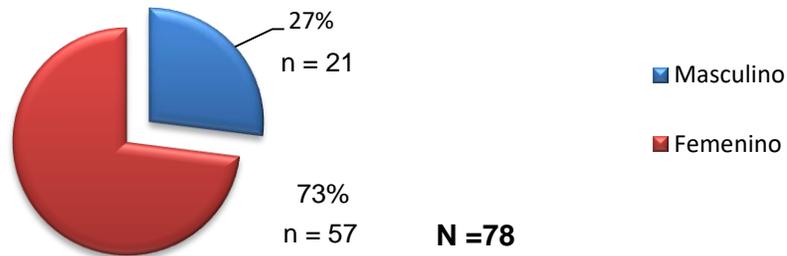


Figura 18. Porcentaje de aislamientos productores de β LEE en relación al género de los pacientes en el CMIC, Hermosillo, Sonora, México. Febrero – Junio 2012.

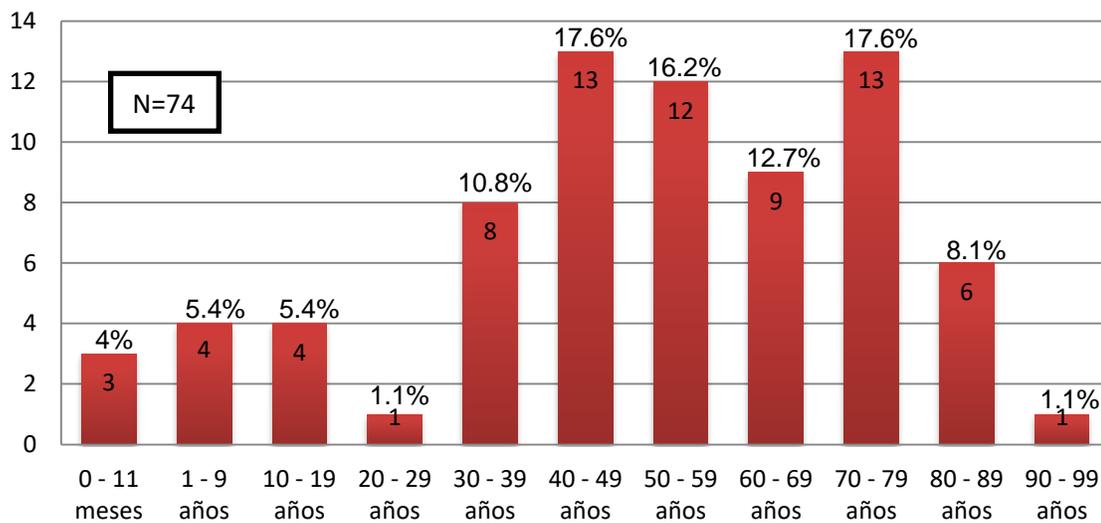


Figura 19. Porcentaje de aislamientos de *E. coli* productores de β LEE en relación a la edad de los pacientes en el CMIC, Hermosillo, Sonora, México. Febrero – Junio 2012.

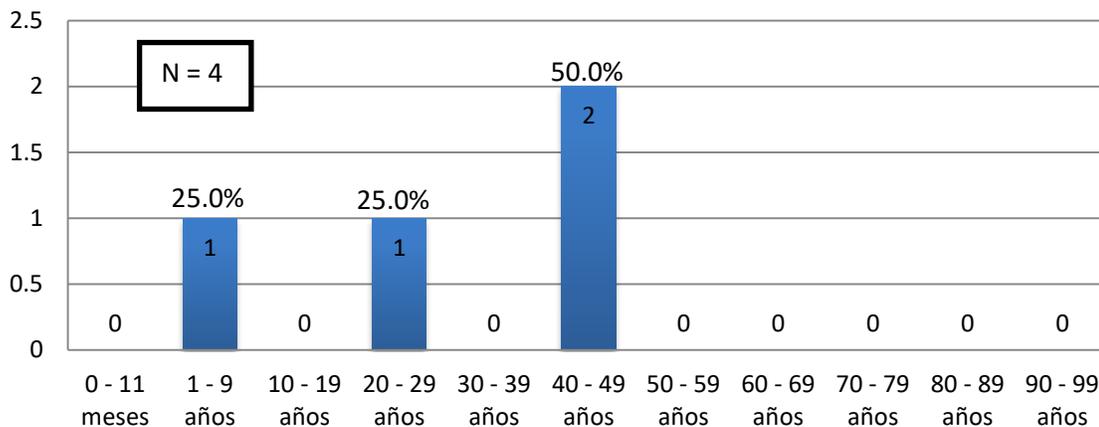


Figura 20. Porcentaje de aislamientos de *K. pneumoniae* productores de β LEE en relación a la edad de los pacientes en el CMIC, Hermosillo, Sonora, México. Febrero – Junio 2012.

Susceptibilidad a los Antibióticos en los Aislamientos Productores de β LEE

En el presente estudio se detectaron a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β LEE como causantes de diversas infecciones hospitalarias y comunitarias, frecuentemente sensibles a los carbapenémicos. Los informes científicos confirman que los carbapenémicos son los antibióticos de primera elección para el tratamiento de las infecciones graves causadas por microorganismos productores de β LEE (Pitout y Laupland, 2008).

En un estudio multicéntrico (Hernández y col., 2003) realizado en España en 170 aislados de *Escherichia coli* todas las cepas fueron sensibles a imipenem. Sin embargo también se analizaron otros antibióticos donde el 66.0% de los aislamientos de *Escherichia coli* fueron sensibles a gentamicina. En cuanto a nitrofurantoína, en un estudio realizado el 2010 (Hernández, 2010), el 85.2% de los aislamientos productores de β LEE fueron sensibles a este

antibiótico. Estudios realizados en Canadá y EE.UU. obtuvieron una tasa de sensibilidad de un 98.9% en 1142 aislados de *Escherichia coli* en IVUs procedentes de la comunidad (Zhanell y col., 2006). En un estudio realizado en Francia arrojaron resultados similares ya que un 98.2% de los aislamientos de *Escherichia coli* de muestra de orina fueron sensibles a nitrofurantoína (Honderlick y col., 2006). En cuanto a trimetoprim/sulfametoxazol, en España se obtuvo un 58.0% de aislamientos productores de β LEE resistentes (Hernández, 2010).

Con este estudio y el anterior 2008 - 2009 se realizó un análisis estadístico relacionado a los cambios en la prevalencia de susceptibilidad en los aislamientos productores de β LEE a los antibióticos nitrofurantoína, gentamicina, trimetoprim/sulfametoxazol y tobramicina. Se observó un cambio significativo en la susceptibilidad a los antibióticos mencionados.

Las pruebas de susceptibilidad realizadas muestran que los microorganismos productores de β LEE fueron mayormente sensibles a los antibióticos carbapenémicos, amikacina y tigeciclina. En la Figura 21 y 22, se muestran los porcentajes de susceptibilidad a los antibióticos obtenidos por cada microorganismo.

La Tabla 16 muestra la prevalencia de los aislamientos de *Escherichia coli* productores de β LEE del presente estudio y del estudio 2008 - 2009, donde los antibióticos como nitrofurantoína, gentamicina, trimetoprim/sulfametoxazol y tobramicina presentaron una disminución significativa en cuanto a la susceptibilidad de estos.

La vigilancia constante de la prevalencia de microorganismos productores de β LEE en los hospitales contribuye a conocer la dimensión del problema y a definir estrategias para su control (Conterno y col., 2007).

El principal factor de riesgo para adquirir una infección por bacterias productoras de β LEE es el uso de antibióticos β -lactámicos, los que son muy utilizados por su baja toxicidad y

amplio espectro, principalmente cefalosporinas de amplio espectro, las que ejercen una presión selectiva y favorecen la aparición de mecanismos de resistencia, lo cual plantea retos importantes desde el punto de vista terapéutico, ya que la única opción para el tratamiento de infecciones graves por productores de β LEE son los carbapenémicos, con el riesgo de que aparezcan cepas resistentes (Escalante y col., 2013).

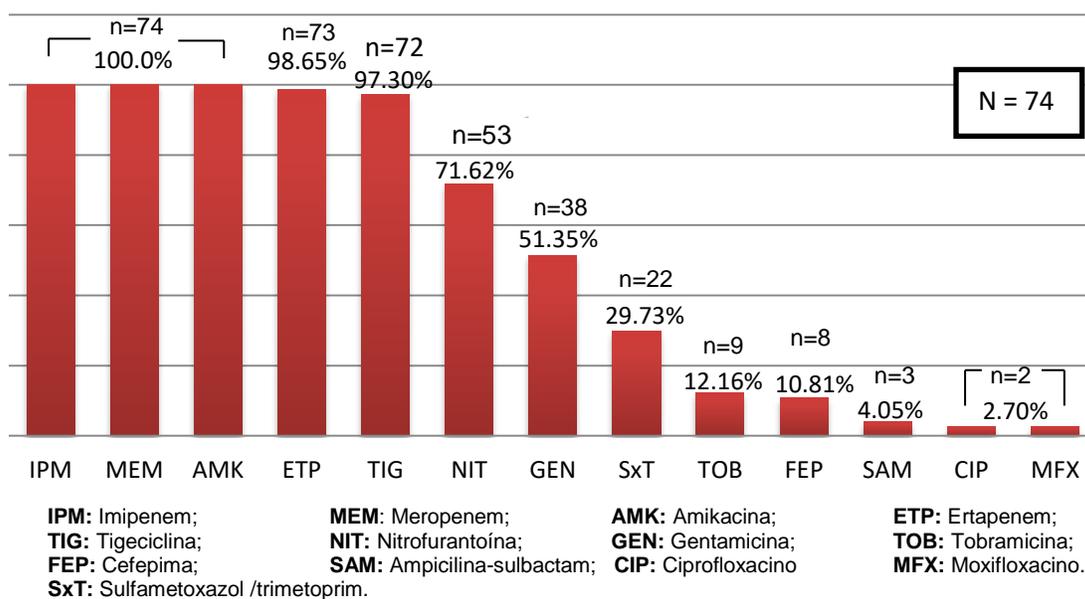


Figura 21. Susceptibilidad a los antibióticos en aislamientos de *E. coli* productores de β LEE.

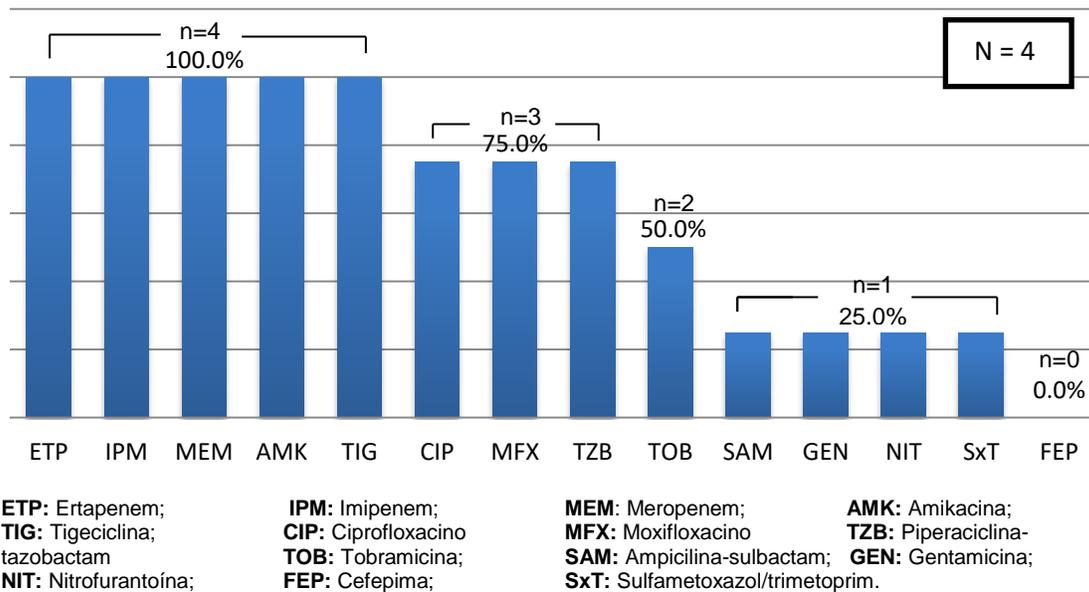


Figura 22. Susceptibilidad a los antibióticos en aislamientos de *K. pneumoniae* productores de β LEE

Tabla 16. Prevalencia de la susceptibilidad a los antibióticos en los aislamientos de *E. coli* productores de β LEE en los dos estudios.

Antibiótico	Año 2008 - 9 N=134	Año 2012 N=74	<i>p</i>
Nitrofurantoína n(%)	111 (84.0)	53 (71.6)	0.04
Gentamicina n(%)	36 (30.0)	38 (51.3)	0.0002
Trimetoprim/Sulfametoxazol n(%)	71 (53.0)	22 (29.7)	0.001
Tobramicina n(%)	49 (38.0)	9 (12.1)	0.0001

CONCLUSIONES

El estudio demuestra la presencia de microorganismos productores de β LEE en el CMIC, sin incremento en la prevalencia en relación al año 2008 -2009.

Los microorganismos productores de β LEE continúan aislándose con mayor frecuencia como causantes de infección en el tracto urinario de pacientes no hospitalizados (consulta externa). El aislamiento más común fue *Escherichia coli*. En relación a la edad y género, los microorganismos productores de β LEE fueron aislados con mayor frecuencia en pacientes con edades que oscilaron entre 40 a 49 años y de 70 a 79 años, predominando el género femenino. En cuanto a la susceptibilidad antimicrobiana las pruebas realizadas muestran que los microorganismos productores de β LEE fueron mayormente sensibles a los antibióticos carbapenémicos, amikacina y tigeciclina.

RECOMENDACIONES

Promover y facilitar estudios que permitan la identificación de los diferentes mecanismos de resistencia que presentan las enterobacterias, para lograr un mejor control de multirresistencia bacteriana.

Establecer un programa de vigilancia epidemiológico que controle este tipo de situaciones, coordinado juntamente con el laboratorio, el comité de vigilancia epidemiológico y el comité de infecciones nosocomiales.

Implementar un programa por medio del cual se difunda y se instruya al personal de salud, acerca de la importancia que tiene la resistencia causada por las β -lactamasas y poder utilizar las herramientas que se tienen para evitar la creciente propagación de éstas.

Continuar realizando estudios como el presente para hacer conciencia sobre la importancia que tiene la resistencia mediada por las enzimas β -lactamasas, y así poder hacer un uso racional de los medicamentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Águila A, Bernedo R, Llop A, Ramírez M, Bravo L, Fernández A, Ledo Y. 2007. Estudio de marcadores fenotípicos y de susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Escherichia coli* entéricas. Rev Cub Med Trop. 59(2):102-7.
- Albarado YL, García J, Rodríguez E, Carpio C, Salazar E, Flores FE, Betancourt JG, Calderón YA, Guzmán LM. 2009. Frecuencia de enterobacterias nosocomiales productoras de b-lactamasas de espectro extendido, Cumaná, Venezuela. NOVA Publ Cient. 7(11):52-59.
- Alpuche AC, Daza TC. 2002. Infecciones nosocomiales por bacterias Gram negativas resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos. Enf Infec Micro. 22(4): 192-199.
- Álvarez AD. 2010. Identificación de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias. Rev Hab Cien Méd. 9(4): 516-524.
- Ambrose PG, Bhavnani SM, Jones RN. 2003. Pharmacokinetics pharmacodynamics of cefepime and piperacillin-tazobactam against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases: report from the ARREST program. Antimicrob Agents Chemother. 47(5): 1643-1646.
- Ang JY, Ezike E, Asmar BI. 2004. Antibacterial resistance. Indian J Pediat. 71(3): 229-239.
- Ardila CR, Briceño CW, Corredor GC. 2009. Factores de riesgo para bacteremia por *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE en una unidad de cuidado intensivo neonatal en Bogotá 2004-2005. Tesis. Universidad del Rosario. Bogotá D.C.

- Arpin C, Dubois V, Maugein J, Jullin J, Dutilh B, Brochet JP, Larribet G, Fischer I, Quentin C. 2005. Clinical and molecular analysis of extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteria in the community setting. *J Clin Microbiol.* 43(10): 5048-5054.
- Barrera MML. 2005. Determinación del perfil de resistencia antibiótica de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella pneumoniae* en el sanatorio privado "Nuestra Señora del Pilar". Tesis. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Bello JM, Fernández RE. 2006. Transferencia de material genético entre bacterias en ambientes acuáticos ¿Un problema de salud pública?. *Rev Dig Univ.* 7(11): [Consultada: 23 de Mayo de 2012]. Disponible en Internet: <http://www.revista.unam.mx/vol.7/num11/art89/int89.htm> ISSN: 1607-6079.
- Bermejo J, Lesnaberes P, Arnesi N, Gianello M, Notario R, Borda N. 2003. Factores de riesgo asociados a infecciones por *Klebsiella pneumoniae* resistentes a ceftacídima. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 21(2):72-76.
- Bermejo J, Bencomo B, Arnesi N, Lesnaberes P, Borda N, Notario R. 2006. Alta correlación entre el consumo de ciprofloxacina y la prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* productora de β -lactamasas de espectro extendido. *Rev Chil Infectol.* 23(4):316-320.
- [BICS] Sociedad Belga para el Control de Infecciones. 2008. ESBLs, detección, vigilancia, prevención y control. Francia.
- Bradford PA. 2001. Extended-spectrum β -lactamasas in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistant threat. *Clin Microbiol Rev.* 14(4):933-951.

- Burguess DS, Hall RG, Lewis II JS, Jorgensen JH, Patterson JE. 2003. Clinical and microbiologic analysis of a Hospital's extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates over a 2-year period. *Pharmacotherapy*. 23(10):1232-1237.
- Cabrera CE, Gómez RF, Zúñiga AE. 2007. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colomb Med*. 38(2):149-158.
- Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. 2008. Prevalence and spread of extended-spectrum betalactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 14 (Suppl 1):144-153.
- Casellas JM. 2011. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Rev Panam Salud Pública*. 30(6):519–528.
- Castro AN, Damariz CE, Moreno GM, Alarcón-Romero LC. 2008. Caracterización molecular de β -lactamasas de espectro extendido en aislamientos clínicos de *Escherichia coli*. *Enf Inf Microbiol*. 28(3):114-120.
- Cattoir V, Poirel I. 2007. Multiplex PCR for detection of plasmid mediated quinolone resistance qnr genes in ESBL-producing enterobacterial isolates." *J Antimicrob Chemother*. 60(2): 394-397.
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2009. Management of multi-resistant organisms in health care settings. Atlanta, Centers for Disease Control and Prevention.
- Champs C, Sirot D. 2000. "A 1998 survey of extended-spectrum betalactamasas in *Enterobacteriaceae* in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 44(11):3177-3179.

- Chandran A, Mohamed AA, Varguese S, Mony K. 2008. Prevalence of multiple drug resistant *Escherichia coli* serotypes in a tropical estuary, India. *Microbes Environ.* 23(2):153-158.
- Cires M. 2002. La resistencia a los antimicrobianos, un problema mundial. *Rev Cub Med GenIntegr.* 18(2):165-168.
- Cisneros JM, Rodríguez BJ, Fernández CF, Ribera A, Vila J, Pascual A, Martínez ML, Bou G, Pachón J. 2005. Spanish Group for Nosocomial Infection (GEIH) for the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). *Clin Microbiol Infect.* 11(11):874-879.
- Clavo SM, Cillero MT, Liso FJ. 2010. Tratamiento de las infecciones producidas por beta-lactamasas de espectro extendido (β LEE). Formación continuada para farmacéuticos del hospital V. Complejo Hospitalario Universitario Infanta Cristina (Badajoz). Ed. Ferrer. 99-122 p.
- [CLSI]. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement. M100-S18. Wayne, PA:CLSI.
- [CODEINEP] Control de infecciones y epidemiología. *Klebsiella pneumoniae*. 2010. Buenos Aires, Argentina. <http://www.codeinep.org/>.
- Colodner R. 2005. Extended-spectrum β -lactamases: a challenge for clinical microbiologists and infection control specialists. *Am J Infect Control.* 33(2):104-107.
- Conterno LO, Shymanski J, Ramotar K, Toye B, Znovar R, Roth V. 2007. Impact and cost of infection control measures to reduce nosocomial transmission of extended-spectrum β -lactamase-producing organisms in a non-outbreak setting. *J Hosp Infect.* 65(4):354-360.

- Coque TM, Baquero F, Canton R. 2008. Increasing prevalence of ESBL producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Euro Surveill.* 13(47):1-11.
- Cosgrove SE, Carmeli Y. 2003. The impact of antimicrobial resistance on health and economic outcomes. *clinical infectious diseases.* *Clin Infect Dis.* 36:1433–1437.
- Coudron PE, Moland ES, Sanders CC. 1997. Occurrence and detection of extended-spectrum β -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* at a veterans medical center: seek and you may find. *J Clin Microbiol.* 35(10):2593-2597.
- De Cueto M. 2005. Diagnóstico microbiológico de la infección del tracto urinario. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 23(Supl. 4):9-14.
- Díaz AM, Hernández RJ, Martínez ML, Rodríguez BJ, Pascual A. 2009. Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Spanish hospitals: 2nd multicenter study. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 27(9):503-510.
- Diestra K, Coque T, Miró E, Oteo J, Nicolau C, Campos J, Bartolomé Moyáe B, Curiaob T, Pérez VM, Cantón RF, Olivero A, Navarroa F, Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI). 2008. Caracterización y epidemiología molecular de betalactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en once hospitales españoles. *Enf Infecc Microbiol Clin.* 26(7):404-410.
- Echeverri TL, Cataño CJ. 2010. *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *IATREIA.* 23(3):240-249.
- Elliott E, Brink AJ, VanGreune J, Els Z, Woodford N, Turton J. 2006. In vivo development of ertapenem resistance in patient with pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* with an extended-spectrum β -lactamase. *Clin Infect Dis.* 42(11):95-98.
- Ercis S, Sancak B, Kocagz T, Kocagz S, Haselik GI, Bolmstrm A. 2007. Rapid 4 to 6 hour detection of extendedspectrum beta-lactamases in a routine laboratory. *Scand J Infect Dis.* 39(9):781-785.

- Escalante JC, Síme DA, Díaz VC. 2013. Características clínicas y epidemiológicas en pacientes con infección intrahospitalaria por bacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido. *Rev Perú Epidemiol.* 17(1):1-6.
- Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis KP, Rafailidis PI. 2008. Fosfomicin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. *Clin Infect Dis.* 46(7):1069-1077.
- Ferreira GM, Spira B. 2008. The post operon of enteropathogenic *Escherichia coli* enhances bacterial adherence to epithelial cells. *Future Microbiol.* 3(5):497-501.
- French GL. 2005. Clinical impact and relevance of antibiotic resistance. *Adv Drug Deliv Rev.* 57(10):1514-1527.
- García HA, García VE, Hernández TA, Ruiz J, Yagüe G, Herrero JA, Gómez J. 2011. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Rev Esp Quimioter.* 24(2):57-66.
- Giamarellou H. 2005. Multidrug resistance in Gram negative bacteria that produce extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). *Clin Microbiol Infect.* 11(Suppl 4):1-16.
- Giske CG, Sundsfjord AS, Kahlmeter G, Woodford N, Nordmann P, Paterson DL. 2009. Redefining extended-spectrum beta-lactamases: balancing science and clinical need. *J Antimicrob Chemother.* 63(1):1-4.
- Gobernado M. 2005. Betalactamasas de espectro extendido en aumento. *Rev Esp Quimioterap.* 18(2):115-117.
- Gómez CP, Plata SM, Sejnau J, Rico CL, Vanegas GS. 2009. Resistencia de la *E. coli* en urocultivos de pacientes con sospecha de infección urinaria intra y extra-hospitalaria en la Fundación Santa Fé de Bogotá. *Urol Colomb* 18(1):53-58.

- González-Núñez ER. 2011. Identificación de *Escherichia coli* diarreogénicas en muestras clínicas (heces) y de alimentos en el estado de Sinaloa. Tesis. IPN Escuela Superior de Medicina Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. México, D. F.
- Goossens H, Grabein B. 2005. Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended-spectrum beta-lactamase and AmpC producing *Enterobacteriaceae* from the MYSTIC program in Europe and the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 53(4):257-264.
- Güerri-Santos ML. 2002. Estudio de la resistencia a antibióticos beta-lactámicos en aislamientos clínicos de "SALMONELLA TYPHIMURIUM". Tesis. Universidad Complutense de Madrid.
- Gupta V. 2007. An update on newer beta-lactamases. *Indian J Med Res.* 126(5):417-27.
- Guzmán MM, Salinas LJ, Toche PP, Afani SA. 2004. Alergia a beta-lactámicos. *Rev Chil Infectol.* 21(4): 285-298.
- Hawkey PM. 2008. Prevalence and clonality of extended-spectrum betalactamases in Asia. *Clin Microbiol Infect.* 14 (Suppl 1):159-165.
- Heritage J, Chambers PA. 2003. SHV-34: an extended-spectrum betalactamase encoded by an epidemic plasmid. *J Antimicrob Chemother.* 52(6):1015-1017.
- Hernández ÁE. 2010. *Escherichia coli* productora de β LEE aislada de urocultivos: implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria. Tesis. Universidad Complutense de Madrid.

- Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez ML. 2003. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH:BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 21(2):77-82.
- Honderlick P, Cahen P, Gravisse J, Vignon D. 2006. Uncomplicated urinary tract infections, what about fosfomycin and nitrofurantoin in 2006?. *Pathol Bio*. 54(8-9):462-466.
- Hunter PR. 2003. Drinking water and diarrhoeal disease due to *Escherichia coli*. *J Wat Health*. 1(2):65-72.
- [IDSA] The Infectious Diseases Society of America. 2008. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and softtissue infections. www.idsociety.org/.
- Itzep VR. 2005. Detección de beta-lactamasa de espectro extendido en *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* aislado de pacientes del hospital general San Juan de Dios. Tesis. Universidad de San Juan de Guatemala.
- Jacoby GA, Munoz-Price LS. 2005. The new beta-lactamases. *N Engl J Med*. 352(4): 380-391.
- Jain A, Roy I, Gupta MK, Kumar M, Agarwal SK. 2003. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase producing Gram-negative bacteria in septicemic neonates in a tertiary care hospital. *J Med Microbiol*. 52(Pt 5):421–425.
- Kola A, Maciejewski O, Sohr D, Ziesing S, Gastmeier P. 2007. Clinical impact of infections caused by ESBL producing *E. coli* and *K. pneumoniae*. *Scand J Infect Dis*. 39(11-12):975-982.
- Laroche E, Petit F, Fournier M, Pawlak B. 2010. Transport of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in a public rural karst water supply. *J Hydrology*. 392(1-2):12-21.

- Lavilla S, González-López JJ, Miró E, Domínguez A, Llagostera M, Bartolomé RM. 2008. Dissemination of extended-spectrum betalactamase-producing bacteria: the food-borne outbreak lesson. *J Antimicrob Chemother.* 61(6):1244-1251.
- Livermore DM, Brown DF. 2001. Detection of β -lactamase-mediated resistance. *J Antimicrob Chemother.* 48(Suppl 1):59-64.
- Livermore DM. 2012. Current Epidemiology and growing resistance of Gram negative pathogens. *J Intern Med.* 27(2):128-142.
- Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G. 2007. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 59(2):165-174.
- López V., Echeverri T. 2010. *K. pneumoniae*: ¿la nueva “superbacteria”? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. *IATREIA.* 23(2):157-165.
- López JA, Robledo J. 2007. Enterobacterias y otros bacilos Gram negativos. *Microbiología de las infecciones humanas.* Medellín: Fondo Editorial CIB. pp130-167.
- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. 2005. Principles and practice of infectious diseases. 7th Edition. Philadelphia: Churchill Livingstone. pp2888-2894.
- Mazariegos BM. 2007. Determinación de la prevalencia beta-lactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* en el Hospital General San Juan de Dios. Tesis. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Marin M, Gudiol F. 2003. beta-Lactam antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 21(1):42-55.

- Máttar S., Martínez P. 2007. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las β -lactamasas de espectro extendido (β LEE): detección, impacto clínico y epidemiología. *Infect.* 11(1):23-35.
- Mindlin SZ, Petrova MA, Bass IA, Gorlenko ZhM. 2006. Origin, evolution, and migration of drug resistance genes. *Russ J Gen.* 42(11):1257-1271.
- Morales JL, Reyes K, Monteghirfo M, Roque M, Irey J. 2005. Presencia de betalactamasas de espectro extendido en dos hospitales de Lima, Perú, *An Fac Med Lima.* 66(1):24-32.
- Moreno MC, González ER, Beltrán C. 2009. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Rev Otorrinolaringol Cir.* 69(2): 185-192.
- Morosini MI, García CM, Coque MT, Valverde A, Novais A, Loza E, Baquero F, Cantón R. 2006. Antibiotic coresistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and in vitro activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother.* 50(8):2695-2699.
- Mulvey MR, Bryce E, Boyd D, Ofner-Agostini M, Christianson S, Simor AE, Paton S. 2004. Ambler class A extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Canadian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 48(4):1204-1214.
- Murray P, Jorgensen J, Pfaller M. 2007. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, and Serratia*. In: Murray P, editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press. pp475-482.
- Naas T, Poirel L, Nordmann P. 2008. Minor extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 14 (Suppl 1):42-52.

- Navarro RF, Miro E, Mirelis B. 2002. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. En puesta al día en métodos microbiológicos para el diagnóstico clínico. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 28(9):638–645.
- Navarro NM, Moreno NB, López BE, Fragoso C, Sánchez JA. 2005. Detección de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (β LEE) en el Hospital Infantil del Estado de Sonora. *Bol Clin Hosp Infant*. 22(2):64-70.
- Navon VS, Ben AR, Carmeli Y. 2005. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect Dis*. 18(4):306-313.
- Neuwirth C, Labia R, Siebor E, Pechinot A, Madea S, Chaibi B, Kazmierczak A. 2000. Characterization of TEM-56 a novel beta-lactamase producer by a *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 44(2):453-455.
- Oliver A, Pérez-Díaz JC, Coque TM, Baquero F, Cantón R. 2001. Nucleotide sequence and characterization of a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase (CTX-M-10) isolated in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 45(2):616-620.
- Pavón RS, Zalazar GM, Morales RM, Rojas PM. 2011. Presencia de β -lactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas de casos de infección nosocomial. *Ciencia Ergo Sum*. 18(2):164-170.
- Paterson DL. 2006. Resistance in Gram negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. *Am J Med*. 119(6 Suppl1):S20-8.
- Paterson DL, Bonomo RA. 2005. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *J Clin Microbiol Rev*. 18(4):657-86.

- Peña C, Pujol M. 2007. Epidemiología y control de los microorganismos productores de β LEE nosocomiales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 25(Suppl 2):18-22.
- Perez F, Endimiani A, Hujer KM, Bonomo RA. 2007. The continuing challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol*. 7(5):459-469.
- Peterson LR. 2008. Antibiotic policy and prescribing strategies for therapy of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: the role of piperacillin-tazobactam. *Clin Microbiol Infect*. 14(Suppl1):181-184.
- Pfaller MA, Segreti J. 2006. Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis*. 15(42 Suppl4):153-163.
- Philippon LN, Naas T, Bouthors AT, Barakett V, Nordmann P. 1997. OXA-18, a class D clavulanic acid-inhibited extended-spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 41(10):2188-2195.
- Pitout JD, Hanson ND, Church DL, Laupland KB. 2004. Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamases: importance of community isolates with bla CTX-M genes. *Clin Infect Dis*. 15(38 Suppl 12):1736-1741.
- Pitout JD, Laupland KB. 2008. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*. 8(3):159-166.
- Pitout JD, Nordmann P. 2005. "Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community." *J Antimicrob Chemother* 56(1):52-59.
- Podschun R, Ullmann U. 1998. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 11(4):589-

603.

Prado JV, Trucco AO, Durán TC, Mamani JR, Royer FM. 2001. Perfil de resistencia a los antimicrobianos en agentes causantes de infección del tracto urinario en niños chilenos: Programa de vigilancia PRONARES. Rev Méd Chile. 129(8):877-885.

Puerta GA, Mateos RF. 2010. Enterobacterias. Medicine. 10(51):3426-3431.

Pujol M, Peña C. 2003. El significado clínico de las betalactamasas de espectro extendido. Enferm Infecc Microbiol Clin. 21(2):69-71.

Ramphal R, Ambrose PG. 2006. Extended-Spectrum β -lactamases and clinical outcomes: current data. Clin Infect Dis. 42(Suppl4):164-172.

Ríos-Torres AM. 2012. Caracterización de la resistencia a β -lactámicos y quinolonas en cepas de *E. coli* aisladas de la microbiota intestinal humana. Tesis. BUAP Posgrado en Microbiología Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas.

Rodríguez BJ, Navarro MD, Romero L, Martínez ML, Muniain MA, Perea EJ, Pérez CR, Pascual A. 2004. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* in nonhospitalized patients. J Clin Microbiol. 42(3):1089-1094.

Rodríguez BJ, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, Perea EJ, Pérez CR, Hernández JR, Pascual A. Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* as a cause of nosocomial infection or colonization: implications for control. Clin Infect Dis. 42(1):37-45.

Rondón NM, Orence OL, Rondón-Guerra AV. 2007. Infección del tracto urinario. Universidad de Los Andes Vicerrectorado Académico CODEPRE 978-980-11-1075-0.

- Rosón B, Carratalá J, Verdaguer R, Dorca J, Manresa E. 2000. Prospective study of the usefulness of sputum Gram stain in the initial approach to community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *Clin Infect Dis.* 31(4):869-7.
- Rubio C, Gil J, Gómez R. 2006. Significado clínico de las resistencias bacterianas. Enfoque clínico de los grandes síndromes infecciosos. Madrid Ergón Ed. 2ª ed:27-36.
- Samaja-Kfoury JN, Araj GF. 2003. Recent development in b-lactamases and extended spectrum β lactamases. *BMJ.* 327(7425):1209-1213.
- Sanders CC, Ehrhardt AF, Moland ES, Thomson KS, Zimmer B, Roe DE. 2002. BetasEN: microdilution panel for identifying betalactamases present in isolates of *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 40(1):123–127.
- Salazar, H; Mireles MC; Moreno MR; Martínez LE. 2002. “Infecciones Nosocomiales”, *Rev Med IMSS.* 40(1):43-51.
- Schwaber MJ, Carmeli Y. 2008. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: A potential threat. *JAMA.* 300(24):2911-2913.
- Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Catry B. 2008. Diversity of extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrob Agents Chemother;* 52(4):1238-1243.
- Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW. 2007. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Food Pathog Dis.* 4(2):134-163.
- Struve C, Krogfelt K. 2004. Pathogenic potential of environmental *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Environ Microbiol.* 6(6):584-590.

- Theoklis E, Monika G, Jaclyn H. 2005. Risk factors for and outcomes of bloodstream infection caused by extended spectrum lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in children. *Pediatrics*. 115(4):942-949.
- Todar K. Pathogenic *E. coli* in: Online textbook of bacteriology. <http://textbookofbacteriology.net/e.coli.html>. USA, 2008.
- Trupia LA, Mollerach A, di Conza JA. 2005. Comparación de tres métodos microbiológicos para la detección de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias aisladas en Santa Fe (Argentina). *Enf Inf Microbio Clín*. 23(9):525-528.
- Tzelepi E, Giakkoupi P, Sofianou D, Loukova V, Kemeroglou A, Tsakris A. 2000. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J Clin Microbiol*. 38(2):542–546.
- Valverde ED, Coque TM, Sánchez MP, Rollán A, Baquero F, Cantón R. 2004. Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum betalactamase-producing *Enterobacteriaceae* during non-outbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol*. 42(10):4769-4775.
- Valverde ED, Parras TP, Herrero A, Pérez R, Fernández M, García I. 2007. Prevalence of clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. producing multiple extended-spectrum beta-lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 59(4):433-437.
- Walther RJ, Hoiby N. 2004. Cefotaximases (CTX-M-ases), an expanding family of extended-spectrum beta-lactamases. *Can J Microbiol*. 50(3):137-165.
- Warren RE, Ensor VM, O'Neill P, Butler V, Taylor J, Nye K. 2008. Imported chicken meat as a potential source of quinolone-resistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother*. 61(3):504-508.

- WHO. World Health Organization. 2012. WHO global strategy for the surveillance and monitoring of HIV drug resistance. ISBN: 978 92 4 150476 8.
- Wiegand I, Geiss HK, Mack D, Sturenburg E, Seifert H. 2007. Detection of extended-spectrum β -lactamases among *Enterobacteriaceae* by use of semiautomated microbiology systems and manual detection procedures. *J Clin Microbiol*; 45(4):1167-1174.
- Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. 2001. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis*. 32(Suppl 2):94-103.
- Zamudio IS. 2009. Síntesis, caracterización y evaluación microbiológica de compuestos espiro- β -lactámicos. Tesis. IPN Escuela Superior de Medicina.
- Zhanel GG, Hisanaga TL, Laing NM, DeCorby MR, Nichol KA, Palatnik LP, Johnson J, Noreddin A, Harding GK, Nicolle LE, Hoban DJ, NAUTICA Group. 2006. "Antibiotic resistance in *Escherichia coli* outpatient urinary isolates: final results from the North American Urinary Tract Infection Collaborative Alliance (NAUTICA)." *Int J Antimicrob Agents*. 27(6):468-475.