

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

***Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de  
 $\beta$ - lactamasas de Espectro Extendido en el Hospital Infantil  
del Estado de Sonora**

**TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA**

Que para obtener el Título de:

**QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO**

Presentan:

Dulce María Orozco Ramírez

Uriel Ramírez Campas

# 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

## FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del Jurado designado para revisar el Trabajo Final de **Dulce María Orozco Ramírez** y **Uriel Ramírez Campas**, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de **Químico Biólogo Clínico**.

---

M. C. Moisés Navarro Navarro  
Presidente

---

M. C. Griselda Macrina Moreno Ibarra  
Secretario

---

M. C. Martha Judith Valdez Ortega  
Vocal

---

M.C. Lucía Guadalupe Castellón Campaña  
Suplente

## **AGRADECIMIENTOS**

Al finalizar un trabajo tan arduo y lleno de dificultades como el desarrollo de una tesis práctica es inevitable que nos asalte un muy humano egocentrismo que nos lleva a concentrar la mayor parte del mérito en el aporte que hemos hecho. Sin embargo, el análisis objetivo nos muestra inmediatamente que la magnitud de ese aporte hubiese sido imposible sin la participación de personas e instituciones que han facilitado las cosas para que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello, es para nosotros un verdadero placer utilizar este espacio para ser justos y consecuentes con ellas, expresándoles nuestros agradecimientos.

Debemos agradecer de manera especial y sincera al M.C. Moisés Navarro Navarro, por aceptarnos para realizar esta tesis práctica bajo su dirección. Su apoyo y confianza en nuestro trabajo y su capacidad para guiar nuestras ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en nuestra formación como futuros investigadores. Las ideas propias, siempre enmarcadas en su orientación y rigurosidad, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntos, el cual no se puede concebir sin su siempre oportuna participación. Le agradecemos también el habernos facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis.

A nuestros sinodales M.C. Martha Judith Valdez Ortega, M.C. Lucia Castellón Campaña y a la M.C. Griselda Macrina Moreno Ibarra por afinar este trabajo con su gran experiencia y conocimientos.

Al Q.B Ernesto Chávez Castillo Jefe del Laboratorio del Hospital Infantil del Estado de Sonora por permitirnos llevar a cabo el trabajo en el hospital.

A las Q.B Ana Dolores Quintero Grijalva, Q.B Griselda López y Q.B Ethelbina Peralta Palacios químicos del HIES, por mantener su atención constante hacia nosotros y resembrar de diario los microorganismos en estudio durante el periodo, en verdad mil Gracias.

De igual forma a la Universidad de Sonora, LACIUS y a todos sus catedráticos por brindarnos los conocimientos necesarios, por su apoyo dentro y fuera del aula ya que esto fue y seguirá siendo útil en el desarrollo de nuestra profesión.

## DEDICATORIAS

Primeramente a **Dios**, Por habernos permitido llegar hasta este punto y habernos dado salud para lograr este objetivo, además de su infinita bondad, amor y sabiduría.

A **nuestros padres** por ser el pilar fundamental en todo lo que somos, en toda nuestra educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

A **nuestros hermanos** Juan Carlos, Francisco Javier, Fabián, Juan Alejandro Ramírez Campas, Adriana y Aaron Orozco Ramírez por ser nuestro ejemplo a seguir y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

M.C. **Moisés Navarro Navarro** por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis; al **M.C. Rogelio Ramos Enríquez** por su apoyo ofrecido en este trabajo en el laboratorio que él mismo dirige; A todos los maestros que nos impartieron clases, por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.

A **nuestros amigos**, que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos: Paulina Ramírez, Janeth Nande, Demetrio Morales, Agustín Tapia, Hiram Hernández, Ana Amarillas y además por habernos ayudado a realizar este trabajo.

A las personas que nos apoyaron en nuestra carrera y vida personal con mucho **cariño y amor**.

A todos aquellos familiares y amigos que ya no están con nosotros y fueron gran ejemplo en nuestras vidas, así como también aquellos que no mencionamos.

¡Gracias a todos ustedes!

## CONTENIDO

FORMA DE APROBACIÓN .....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
DEDICATORIAS.....	5
LISTA DE FIGURAS .....	9
OBJETIVO .....	10
Objetivo General.....	10
Objetivos Específicos.....	10
RESUMEN.....	11
INTRODUCCIÓN.....	12
<i>Escherichia coli</i> .....	16
Hábitat.....	16
Infecciones Causadas por <i>Escherichia coli</i> .....	17
<i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	17
Infecciones Causadas por <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	17
Resistencia a los Antibióticos.....	18
Resistencia Antimicrobiana en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> .....	18
β-lactamasas.....	18
Clasificación de las β-lactamasas.....	21
β-lactamasas de Espectro Extendido (Clase 2be).....	24
MATERIALES Y MÉTODOS .....	27
Tipo de Estudio y Tamaño de la Muestra.....	27
Identificación de los Aislamientos y Resistencia a los Antibióticos .....	27
Detección Fenotípica de Producción de BLEE.....	27
Método de Disco Difusión con Doble Disco.....	28
Criterios de Exclusión.....	29
Criterios de Inclusión .....	29
Análisis Estadístico .....	32
RESULTADOS.....	33
Aislamientos Totales.....	33

Sitio anatómico colonizado o infectado.....	36
Prevalencia de aislamientos BLEE por Servicio Hospitalario .....	38
Resistencia a los Antibióticos en <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> Productores de BLEE .....	40
CONCLUSIONES.....	43
REFERENCIAS .....	44

## LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Clasificación de las $\beta$ - lactamasas.....	23
2	Prevalencia de producción de BLEE en aislamientos de <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> en diferentes años, en el HIES. Hermosillo, Sonora, Febrero – Agosto 2012.....	35
3	Prevalencia de <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> productores de BLEE por sitio anatómico colonizado o infectado, en el HIES. Hermosillo, Sonora, Febrero – Agosto 2012.....	37
4	Prevalencia de <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Escherichia coli</i> productores de BLEE en el HIES. Hermosillo, Sonora, Febrero – Agosto 2012.....	39
5	Sensibilidad a los antibióticos de <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> productoras de BLEE. Hermosillo, Sonora, Febrero – Agosto de 2012.....	41

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Reacción de hidrólisis de anillos $\beta$ -lactámicos por la enzima $\beta$ -lactamasa.....	19
2	$\beta$ -lactamasas en organismos Gram positivos.....	20
3	$\beta$ -lactamasas en organismos Gram negativos.....	20
4	Ensayo fenotípico de un aislamiento productor de BLEE.....	28
5	Informe clínico de microbiología proporcionado por el HIES, para un aislamiento de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	30
6	Informe clínico de microbiología proporcionado por el HIES, para un aislamiento de <i>Escheriachia coli</i> .....	31
7	Distribución de aislamientos totales, posibles productores de BLEE recolectados en el HIES, durante el periodo Febrero-Agosto 2012.....	33
8	Prevalencia de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productora de BLEE en el HIES, Hermosillo, Sonora. Febrero – Agosto 2012.....	34
9	Prevalencia de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE en el HIES, Hermosillo, Sonora. Febrero- Agosto 2012.....	34

## OBJETIVO

### Objetivo General

Determinar la prevalencia de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de  $\beta$ -Lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) a partir de muestras clínicas de pacientes del Hospital Infantil del Estado de Sonora (HIES).

### Objetivos Específicos

- Detectar fenotípicamente los aislamientos *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE.
- Determinar los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana en los aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE.
- Estudiar los servicios médicos y las muestras clínicas con mayor prevalencia de aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE en el HIES.
- Comparar la prevalencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE en relación a estudios anteriores.

## RESUMEN

Las  $\beta$ -lactamasas de Espectro Extendido (BLEE) son enzimas capaces de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de espectro extendido como cefotaxima, ceftazidima, y monobactámicos como el aztreonam. Los genes que codifican las BLEE comúnmente se encuentran codificados en un mismo plásmido conjugativo que contiene genes de multirresistencia a otros grupos de antibióticos. La producción de BLEE se relaciona con fallas terapéuticas y es un grave problema para el control de infecciones hospitalarias, además de incrementar la morbimortalidad y los costos de hospitalización. Las BLEE son producidas con más frecuencia por *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) afectando principalmente a pacientes críticos con presión antibiótica significativa. La prevalencia de microorganismos productores de BLEE ha ido constantemente en aumento hasta alcanzar cifras alarmantes en la última década. Para los servicios e instituciones de salud es importante vigilar con qué frecuencia se aíslan dichos microorganismos con el fin de establecer políticas y medidas para controlar su diseminación. Por lo anterior nos propusimos determinar la prevalencia de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE en el Hospital Infantil del Estado de Sonora (HIES) y comparar dicha prevalencia con un estudio realizado del año 2008 al 2009. Durante el período del 07 de Febrero al 06 de Agosto de 2012, se estudiaron 556 aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* cuya identificación y pruebas de susceptibilidad se realizaron utilizando el sistema VITEK 2. Para determinar la producción de BLEE se utilizó el método de sinergia de doble disco, empleando cefotaxima y ceftazidima con y sin ácido clavulánico. Se registró el servicio hospitalario y la muestra clínica de donde se recuperaron los aislamientos, así como la susceptibilidad a los antibióticos. Se determinó chi cuadrada o la prueba exacta de Fisher utilizando el paquete estadístico NCSS. Se consideró significativo el valor de  $p < 0.05$ . La prevalencia de aislamientos productores de BLEE fue de 13.5% para *K. pneumoniae* y 6.3% para *E. coli*. La prevalencia encontrada no presentó diferencia significativa con un estudio realizado en el año 2008-2009 para ninguno de los microorganismos. Los microorganismos productores de BLEE se aislaron con mayor frecuencia del tracto urinario y gastrointestinal, y de los servicios hospitalarios de cuidados intensivos, medicina interna, oncología y de pacientes no hospitalizados. La mayor prevalencia de sensibilidad a los antibióticos de los microorganismos productores de BLEE se presentó frente a los antibióticos carbapenémicos. Aunque la prevalencia de productores de BLEE no presentó niveles alarmantes, se recomienda reforzar las medidas de control de infecciones y las políticas de uso de antibióticos.

## INTRODUCCIÓN

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 (Kmietowics, 2000). La resistencia a los antimicrobianos es más común cuando estos son usados con mayor frecuencia (Jain y col., 2003). Las bacterias han logrado adaptarse desarrollando mecanismos de resistencia a los agentes antimicrobianos. El uso inapropiado de agentes antimicrobianos aumenta la selección de cepas resistentes y favorece su multiplicación y propagación (Pavón y col., 2011). En la actualidad, se cuenta con medicamentos eficientes para curar prácticamente todas las enfermedades infecciosas, pero se corre el riesgo de que pierdan su eficiencia y también nuestra oportunidad para controlar eventualmente muchas enfermedades infecciosas debido a la creciente resistencia a los antimicrobianos (Kmietowics, 2000).

Las enterobacterias son microorganismos etiológicos más frecuentemente asociados a las infecciones nosocomiales (IN), caracterizándose por su alta resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, mediada por la producción de BLEE. Su uso excesivo aumenta la selección de cepas multirresistentes, favoreciendo su propagación e incremento de las complicaciones de casos de IN. Las IN constituyen un problema en la mayoría de los hospitales y su frecuencia es muy variable. Los tipos y localización de éstas son igualmente muy diversos, los informes más frecuentes se refieren a vías urinarias, heridas quirúrgicas, neumonía, flebitis, bacteriemia, tejidos blandos y vías respiratorias altas (Pavón y col., 2011).

Las IN son una importante causa de morbilidad y mortalidad, así como de incremento de costos para los sistemas de salud a nivel mundial. En México se han realizado estudios para determinar su frecuencia en diferentes hospitales, principalmente del sector público observándose una amplia variación, ya que se reportan valores entre el 10 y el 15% en hospitales de segundo y tercer nivel de atención. En México, la mortalidad asociada a IN es del 5%, ubicándose como la séptima causa de muerte. Durante las dos últimas décadas las bacterias Gram negativas como *Klebsiella spp*, *E. coli*, *Enterobacter spp* y *P. aeruginosa* se encuentran entre las causas principales de IN (Pavón y col., 2011).

Los microorganismos causantes de IN regularmente son resistentes a los antibióticos. La producción de BLEE es de gran preocupación para las instituciones de salud ya que confieren resistencia a todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, incluyendo los monobactam, excepto carbapenémicos y cefamicinas. Además, las BLEE se encuentran codificadas en plásmidos que también contienen genes para resistencia a fluoroquinolonas, aminoglucósidos, trimetoprim y sulfas. La terapia antibiótica de las infecciones causadas por productores de BLEE representa un reto para el médico y para las infecciones graves, la terapia de elección es el uso de los antibióticos carbapenémicos. El aumento en la prevalencia de las infecciones causadas por productores de BLEE, incrementa también el uso de carbapenémicos lo que podría traer consigo el surgimiento de microorganismos resistentes (Morales, 2003).

## ANTECEDENTES

Las BLEE son enzimas derivadas principalmente de las familias TEM y SHV, codificadas en plásmidos, que han sustituido de 1 a 3 aminoácidos cercanos al sitio activo, confiriendo resistencia a penicilinas de espectro extendido y cefalosporinas de tercera generación. El principal mecanismo de resistencia de las enterobacterias a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos se haya mediado por  $\beta$ -lactamasas (Pavón y col., 2011). Las BLEE's representan el mayor grupo de lactamasas recientemente identificado en todo el mundo en su mayoría producidas por bacterias Gram negativas y han emergido como serios patógenos nosocomiales a nivel mundial. La exposición persistente de cepas bacterianas a  $\beta$ -lactámicos induce a mutaciones y producción de BLEE's expandiendo su actividad incluso en contra de cefalosporinas de tercera y cuarta generación como ceftazidima, cefotaxima y cefepima y contra monobactámicos como el aztreonam (Haque y col., 2010). Se ha encontrado que los carbapenémicos son los medicamentos más eficientes para el tratamiento de las infecciones causadas por estas bacterias (Nasa y col., 2011).

Hasta mediado de los 80's, se sabía que la resistencia a los  $\beta$ -lactámicos se limitaba a microorganismos con genes cromosómicos que codificaban para  $\beta$ -lactamasas inducibles, esta forma de resistencia no es transmisible. Por lo tanto, fue una desagradable sorpresa cuando en Alemania, en 1983 se aisló *Klebsiella* spp, con resistencia a cefalosporinas de 3ª generación mediada por plásmidos. En el año siguiente, una resistencia similar en *Klebsiella* se informó en Francia. Se encontró en el primer caso la resistencia se debe a una  $\beta$ -lactamasa que difería de la enzima SHV-1 por una sola mutación, y fue nombrada por lo tanto, SHV-2. La enzima detectada en Francia fue llamada CTX-1, y se encontró que era una mutación de la enzima TEM. Estas enzimas fueron llamadas posteriormente BLEE. En la actualidad, se han descrito al menos 67 BLEE derivadas de las TEM y 12 BLEE derivadas de las SHV (Jain et al., 2003).

La detección de microorganismos productores de BLEE. Los procedimientos de laboratorio para la identificación de BLEE son muy importantes, existen varios métodos fenotípicos, de bioensayos, bioquímicos y genotípicos (Álvarez, 2010). Para reportar correctamente estas cepas, el Instituto para Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, anteriormente NCCLS), publicó guías para la realización de pruebas de laboratorio que detectan la producción de BLEE por *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *E. coli* (CLSI 2008).

Un estudio realizado entre los años 2008 y 2009, en el HIES se encontró una prevalencia de 22.8 y 39.6% entre los aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE respectivamente (Navarro y col., 2011). Es por eso que proponemos determinar cambios en la prevalencia de aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE en aislamientos del HIES. La vigilancia de la prevalencia de bacterias resistentes a los antibióticos, es importante para bloquear su posible diseminación y orientar en la toma de decisiones por los comités hospitalarios para el control de infecciones. Conociendo el origen de los aislamientos resistentes se puede intentar interrumpir su diseminación, utilizando barreras físicas, a través de un mejor control de infecciones y una mejor higiene.

## ***Escherichia coli***

*E. coli*, especie bacteriana más minuciosamente estudiada y no solamente por sus capacidades patogénicas sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole (Neidhardt. 1999). Forma parte de la familia *Enterobacteriaceae* (Ewing, 1985). Son bacilos Gram negativos de 1.1-1.5 µm X 2.0-6.0 µm (Holt y col., 2000). En los diferentes medios de cultivo como agar MacConkey o eosina-azul de metileno (EMB), *E. coli* tiene una morfología característica, la cual forma una colonia rosa con una zona circundante de precipitado de sales biliares en agar MacConkey, y con un brillo metálico de color verde característico de las colonias en agar EMB (Romero, 2007).

### **Hábitat**

*E. coli* vive en los intestinos de los animales rumiantes, como vacas, cabras, ovejas, ciervos y alces. La principal fuente de las enfermedades humanas es el ganado. *E. coli* cuando causa enfermedad en seres humanos, por lo general no lo hace en los animales. Otros tipos de animales, como los cerdos y las aves, a veces recogen *E. coli* del medio ambiente y pueden contagiar. Fuente: <http://www.cdc.gov/ecoli/>.

*E. coli* es un habitante normal del tubo intestinal de animales y el hombre. Coloniza el canal alimenticio durante el primer día de vida y posteriormente permanece como un miembro constante de la flora de este hábitat. Fuente: <http://www.cdc.gov/ecoli/>

*E. coli* es el principal anaerobio facultativo de la flora microbiana que reside en el colon humano (Vidal y col., 2007).

Los brotes de diarrea asociados con consumo de alimentos o bebidas contaminados por *Escherichia coli* enteropatógena, enterotoxigénica y las enteroinvasivas, en países desarrollados son raros; mientras que los provocados por la *Escherichia coli* enterohemorrágica son relativamente frecuentes y siguen una progresión alarmante (Romero, 2007).

## **Infecciones Causadas por *Escherichia coli***

Dentro de las cepas que pueden causar infecciones en sitios extraintestinales, los sitios más frecuentes de infección clínicamente importantes son, vías urinarias, vías biliares y otros sitios de la cavidad abdominal, pero cualquier sitio anatómico (por ejemplo próstata, pulmón, hueso, meninges) pueden resultar afectados (Brooks y col., 2008).

### ***Klebsiella pneumoniae***

Son bacilos que miden 0.3-1.0  $\mu\text{m}$  de diámetro y 0.6-6.0  $\mu\text{m}$  de longitud (Holt y col., 2000). Los miembros de este género son bacilos no flagelados, y por lo tanto son inmóviles, pero poseen una gran cápsula, sólo tienen antígenos "O" y "K" (Romero, 2007).

*K. pneumoniae* se encuentra en el aparato respiratorio y en las heces de casi 5% de las personas sanas.

Los factores de patogenicidad de esta bacteria son: la cápsula, que es un factor antifagocitario, contribuyendo así a su virulencia, además da lugar a grandes colonias mucoides, especialmente en un medio rico en carbohidratos. Esta característica las distingue de otras *Enterobacteriaceae*, a excepción de algunas cepas de *Enterobacter aerogenes* y *E. coli*.

## **Infecciones Causadas por *Klebsiella pneumoniae***

*K. pneumoniae* es un patógeno que puede causar septicemia, neumonía, infecciones en vías urinarias y en heridas. Es causa frecuente de infecciones nosocomiales en urología, atención neonatal, cuidados intensivos, y en pacientes geriátricos (Holt y col., 2000; Mahon y col., 2007). En México existen algunos reportes que muestran a *K. pneumoniae* como uno de los principales organismos causantes de infecciones intrahospitalarias con altas tasas de morbimortalidad (Andrade y col., 2004). Es un patógeno oportunista colonizador de piel y mucosas de pacientes hospitalizados que pueden presentar infecciones invasoras como bacteriemias o septicemias. Usualmente las manos contaminadas del personal son el vehículo responsable de brotes epidémicos (Andrade y col., 2004).

## Resistencia a los Antibióticos

### Resistencia Antimicrobiana en *E. coli* y *K. pneumoniae*

La resistencia a los antibióticos puede aparecer en aislamientos clínicos que antes eran sensibles mediante la transferencia de plásmidos conocidos como factores R o plásmidos R. Las bacterias entéricas Gram negativas poseen comúnmente un único y gran plásmido R que codifica para la resistencia a varios antibióticos (Koneman y col., 2008). La producción de BLEE's es el mecanismo más común de resistencia a cefalosporinas de tercera generación entre *Enterobacteriaceae* (Castro y col., 2008; Muzahed y col., 2009).

*E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE's mediada por plásmidos, pueden inactivar cefalosporinas de espectro extendido (tal como la cefotaxima), penicilinas y monobactámicos (aztreonam) (Mahon y col., 2007).

### $\beta$ -lactamasas

La producción de  $\beta$ -lactamasas es el principal mecanismo de resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos en bacterias Gram negativas (Barcelona y col., 2008). Estas enzimas inactivan los  $\beta$ -lactámicos al hidrolizar el enlace amida cíclico del anillo  $\beta$ -lactámico (Figura 1). La mayoría de las  $\beta$ -lactamasas inactivan ya sea penicilinas o cefalosporinas pero algunas son capaces de inactivar ambos tipos de antibióticos (Andrade, 2005; Cavalieri, 2005).

La actividad enzimática de las  $\beta$ -lactamasas está dirigida específicamente al enlace amida cíclico presente en el anillo  $\beta$ -lactámico, con producción de un compuesto ácido carente de actividad antibacteriana. De acuerdo con su posición genómica dentro de los microorganismos, las  $\beta$ -lactamasas pueden ser cromosómicas o plasmídicas (Barcelona y col., 2008).

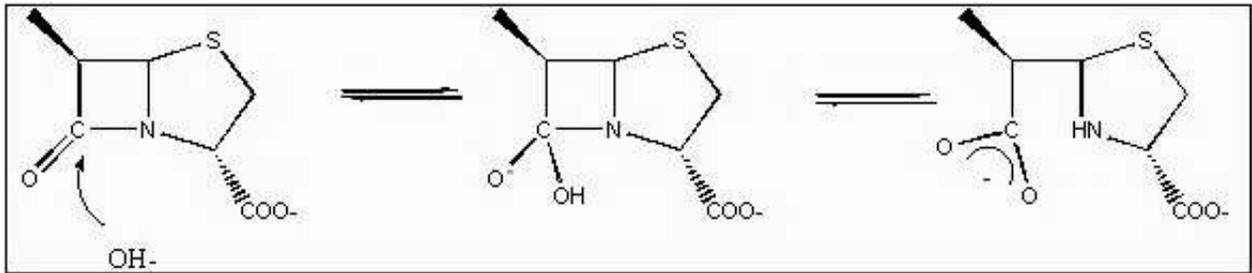


Figura 1. Reacción de hidrólisis de anillos  $\beta$ -lactámicos por la enzima  $\beta$ -lactamasa.

Fuente: Cavalieri, 2005

Una importante proporción de las  $\beta$ -lactamasas descritas hasta este momento son codificadas por genes de ubicación plasmídica, es decir, en material genómico bacteriano fácilmente transferible (Barcelona y col., 2008). A las primeras  $\beta$ -lactamasas aisladas se les denominó  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro (TEM-1, TEM-2, SHV-1), que confieren resistencia a la ampicilina y amoxicilina, pero no a cefalosporinas de tercera generación (Castro y col., 2008).

La mayoría de bacterias Gram positivas secretan sus  $\beta$ -lactamasas de forma que los agentes antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos son inactivados extracelularmente, en el medio que las rodea (Figura 2) (Cavalieri, 2005). En contraste, las  $\beta$ -lactamasas de las bacterias Gram negativas permanecen dentro de la célula e inactivan los  $\beta$ -lactámicos en el espacio periplásmico (Figura 3) (Cavalieri, 2005).

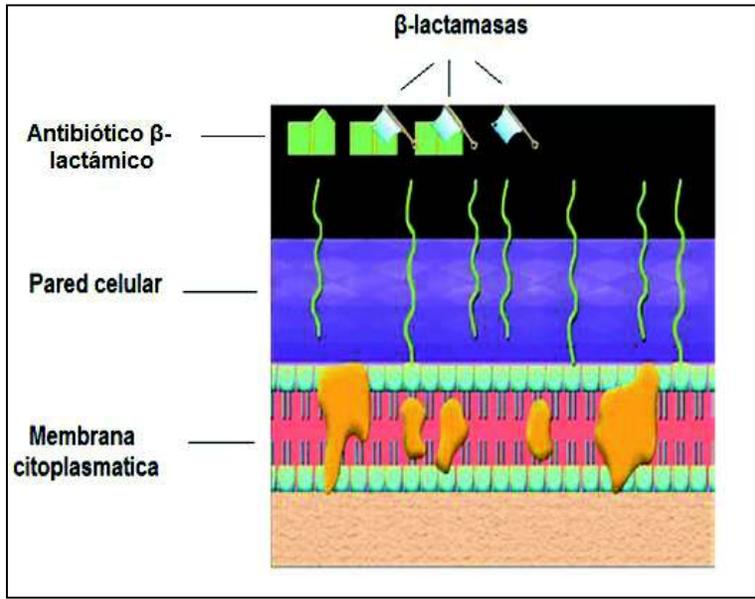


Figura 2. β-lactamasas en organismos Gram positivos. Fuente: Cavalieri, 2005

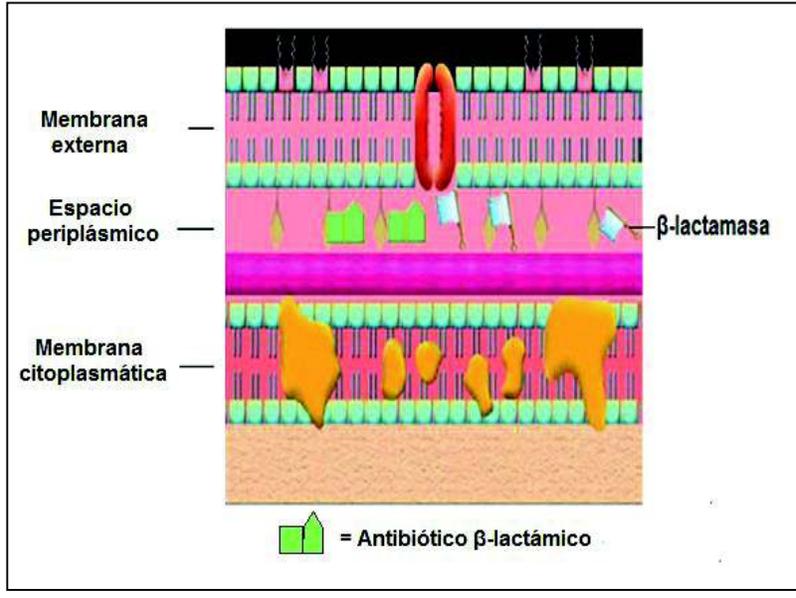


Figura 3. β-lactamasas en organismos Gram negativos. Fuente: Cavalieri, 2005

La primera  $\beta$ -lactamasa fue identificada en *E. coli* aún antes de que la penicilina estuviera comercializada (Barcelona y col., 2008). La diseminación de las  $\beta$ -lactamasas TEM-1, TEM-2 y SHV-1 se produjo como consecuencia directa de la presión selectiva ejercida por la introducción de la ampicilina, carbenicilina y las primeras cefalosporinas en los años 60. En 1969 se detectaron enzimas TEM en *Pseudomonas aeruginosa* y de 1973 a 1975 se encontraron en *Haemophilus influenzae*, *Vibrio cholerae* y *Neisseria gonorrhoeae* (Perozo-Mena y col., 2007).

En los bacilos Gram negativos, las  $\beta$ -lactamasas del tipo TEM (esencialmente de *E. coli*) y SHV (esencialmente de *K. pneumoniae*) son las más representativas. Las enzimas TEM-1, TEM-2 (grupo TEM) y SHV-1 (grupo SHV), pueden hidrolizar bencilpenicilina, aminopenicilinas (ampicilina y amoxicilina), carboxipenicilinas (carbenicilina y ticarcilina) y ureidopenicilinas (entre ellas, piperacilina), pero no manifiestan acción hidrolítica de relevancia contra las cefalosporinas (Barcelona y col., 2008). La presencia de mutaciones en los genes que codifican para estas enzimas dio origen a nuevas  $\beta$ -lactamasas capaces de hidrolizar las cefalosporinas de tercera generación y al monobactam, a las que se le denominó BLEE's, estas enzimas pueden hidrolizar cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 1<sup>a</sup> generación y las penicilinas con excepción de los carbapenémicos (Castro y col., 2008).

Además de las enzimas clásicas tipo TEM y SHV, las enzimas BLEE's tipo CTX-M se han incrementado en todo el mundo en años recientes. En contraste con las BLEE's tipo TEM y SHV, las enzimas CTX-M son mucho más activas contra cefotaxima y ceftriaxona que contra ceftazidima (Castro y col., 2008).

### **Clasificación de las $\beta$ -lactamasas**

Se han propuesto varios modelos de clasificación para las  $\beta$ -lactamasas de acuerdo con su espectro de hidrólisis, susceptibilidad a inhibidores, ubicación en genes (plásmido o cromosoma), y secuencia de aminoácidos (Cavaliere, 2005).

Existen dos sistemas principales de clasificación: las  $\beta$ -lactamasas son clasificadas de acuerdo a dos esquemas: el de Ambler y el de Bush-Jacoby-Madeiros. La clasificación de Ambler, fue introducida en 1980, y divide a las  $\beta$ -lactamasas en cuatro clases A, B, C y D. Está

basada en la estructura molecular de la  $\beta$ -lactamasa y en la similitud u homología de los aminoácidos, no teniendo en cuenta las características fenotípicas. En esta clasificación el tipo A incluye grupos de enzimas relacionados por su evolución que poseen serina en su zona activa, serino- $\beta$ -lactamasas, en éste se encuentran las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. La clasificación de Bush-Jacoby-Madeiros se basa en los sustratos que la  $\beta$ -lactamasa hidroliza y en la inhibición de su actividad por compuestos como el ácido clavulánico. Este modelo funcional de clasificación de las  $\beta$ -lactamasas, propuesto en 1995, define cuatro grupos de acuerdo a los sustratos hidrolizados y perfiles de inhibición (Tabla 1) (Cavalieri, 2005; Máttar y col., 2007).

### **$\beta$ -lactamasas de Amplio Espectro (Clase 2b)**

Muchas  $\beta$ -lactamasas conocidas están agrupadas en el Grupo 2b según la clasificación de Bush, incluyendo las enzimas codificadas en plásmidos TEM-1, TEM-2 y SHV-1 que intervienen en la resistencia a ampicilina y primera generación de cefalosporinas en *Enterobacteriaceae*. Estas enzimas son inhibidas por el ácido clavulánico. A medida que se incrementa el nivel de expresión de las  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro, aparece la resistencia a otros  $\beta$ -lactámicos como cefalotina y cefazolina. Las siglas TEM se derivan del nombre del primer paciente (Temoneira) en quien fue aislada una *E. coli* productora de  $\beta$ -lactamasa en 1965. La SHV es considerada un pariente lejano de la TEM, las siglas se derivan de la clasificación inicial como una "variedad sulfhidrilo" (Cavalieri, 2005).

**Tabla 1. Clasificación de las  $\beta$ -lactamasas de Bush, Jacoby-Medeiros y Ambler**

Bush, Jacoby-Medeiros		Ambler	Atributos de $\beta$ -Lactamasas
Grupo	Subgrupo		
<b>1</b>		C	AmpC $\beta$ -lactamasas. Los genes a menudo son cromosómicos pero pueden ser plasmídicos. Confiere resistencia a todos los tipos de $\beta$ -lactámicos, excepto los carbapenemes. No son inhibidas por el ácido clavulánico.
<b>2</b>		A,D	La mayoría de enzimas del Grupo 2 son inhibidas por el ácido clavulánico (a menos que se indique lo contrario).
	2a	A	Incluyen penicilinas estafilocócica y enterocócica. Confiere alta resistencia a las penicilinas.
	2b	A	$\beta$ -lactamasas de amplio espectro, incluyen TEM-1 y SHV-1, primordialmente de bacterias Gram negativas.
	2be	A	$\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEEs) confieren resistencia a las penicilinas, oximinocefalosporinas y monobactámicos inhibidas por el ácido clavulánico.
	2br	A	$\beta$ -lactamasas tipo TEM (IRT) y una tipo SHV que son resistentes a los inhibidores.
	2c	A	Enzimas que hidrolizan la carbenicilina.
	2d	D	Enzimas que hidrolizan la cloxacilina (oxacilina); inhibidas moderadamente por el ácido clavulánico.
	2e	A	Cefalosporinasas.
	2f	A	Enzimas que hidrolizan los carbapenemes con serina en el sitio activo.
<b>3</b>	3a, 3b, 3c	B	Metallo- $\beta$ -lactamasas que confieren resistencia a los carbapenemes y todos los tipos de $\beta$ -lactámicos excepto los monobactam. No inhibidas por el ácido clavulánico.
<b>4</b>		?	Penicilinasas misceláneas que no pueden ser incluidos en otros grupos. No son inhibidas por el ácido clavulánico.

Fuente: Cavalieri, 2005

El gene *bla* TEM-1 (codifica la  $\beta$ -lactamasa TEM-1) es responsable de la resistencia a la ampicilina en *E. coli*, otras *Enterobacteriaceae* y *Haemophilus influenzae* y la resistencia a la penicilina en *Neisseria gonorrhoeae* (Cavalieri, 2005).

El gene *bla* SHV-1 que codifica las  $\beta$ -lactamasas tipo SHV-1 y enzimas similares producidas por *K. pneumoniae* y otras *Enterobacteriaceae* confieren resistencia a la ampicilina y penicilinas relacionadas (Cavalieri, 2005).

### **$\beta$ -lactamasas de Espectro Extendido (Clase 2be)**

Las BLEE se originaron de mutaciones en los genes de las  $\beta$ -lactamasas TEM y SHV. Estas mutaciones en el sitio activo confieren resistencia a los antibióticos oximino  $\beta$ -lactámicos (como las cefalosporinas de 3ª generación y el monobactámico aztreonam), pero no a las cefamicinas (cefoxitina y cefotetan) ni a los carbapenémicos. Estas enzimas confieren grados variables de actividad contra las cefalosporinas de tercera generación como ceftazidima y cefotaxima (Garzón y col., 2004; Martínez y col., 2005; Muzachiodi y col., 2005; Díaz y col., 2009). Una de las características principales de las  $\beta$ -lactamasas del Grupo 2 es su inhibición por el ácido clavulánico (Cavalieri, 2005).

Las primeras BLEE se describieron en 1983 en Alemania en diferentes aislados de Enterobacterias que presentaban resistencia a cefotaxima y ceftazidima y cuya expresión podía transferirse por conjugación. Desde entonces, estas BLEE se han detectado cada vez con más frecuencia en diferentes países del mundo (Díaz y col., 2009). El incremento en el aislamiento de enterobacterias productoras de BLEE's, posiblemente esté relacionado a la introducción y uso masivo de las cefalosporinas de tercera generación y el aztreonam (Gobernado, 2005; Muzachiodi y col., 2005).

Muchas de las BLEE's en *E. coli* y *K. pneumoniae* son derivadas de  $\beta$ -lactamasas tipo SHV-1 y TEM-1, TEM-2, por una o más sustituciones de aminoácidos que confieren resistencia a las cefalosporinas de tercera generación y aztreonam (Martínez y col., 2005; Garza-Ramos y col., 2007). Casi todos los genes SHV que codifican BLEE's tienen mutaciones en G/A, que especifican sustituciones en los aminoácidos 238 y 240, glicina/serina y glutamato/lisina, respectivamente. En general, la sustitución en la posición 238 (SHV-2) le confiere un gran

aumento en la resistencia a cefotaxima, mientras que la sustitución adicional en la posición 240 (SHV-5) confiere un aumento en la resistencia a ceftazidima. Estas mutaciones se han documentado en los aislados clínicos de *K. pneumoniae* de los hospitales en México, los que han sido implicados en brotes con alta mortalidad. Mientras tanto, 127 diferentes mutantes SHV han sido reconocidas en todo el mundo, así como 177 mutantes de TEM (Lahey Clinic 2013).

Recientemente se han identificado enzimas no-TEM, no-SHV como las nuevas familias CTX-M, encontradas en América del Sur y Europa, las TOHO-1 y TOHO-2 en Japón, PER-1 en Turquía, PER-2 en Sur América y VEB-1 en Vietnam y Tailandia (Martínez y col., 2005). Los aislamientos que producen CTX-M son típicamente resistentes a cefotaxima y algunos tienen susceptibilidad reducida a los inhibidores de las  $\beta$ -lactamasas (Cavaliere, 2005). Las  $\beta$ -lactamasas tipo CTX-M son cada vez más predominante a nivel mundial en los últimos años, en comparación con las  $\beta$ LEEs convencionales de tipo TEM y SHV (Muzahed y col., 2009).

Las BLEE's se encuentran codificadas principalmente en plásmidos, lo que les confiere una capacidad de diseminación mayor en distintas cepas y en periodos de tiempo corto, además, se presume que pueda transferirse a bacterias de la microbiota normal (Martínez y col., 2005; Sánchez y col., 2008); en algunos casos estos plásmidos codifican para otros genes de resistencia a antimicrobianos. Por lo tanto, es común que organismos que expresen una BLEE, presenten corresistencia con los aminoglucósidos, trimetoprim/sulfametoxazol y fluoroquinolonas (Martínez y col., 2005). Todo ello determina que las opciones terapéuticas para las infecciones causadas por bacterias que producen BLEE's sean limitadas (Muzachiodi y col., 2005).

Las infecciones causadas por aislamientos productores de BLEE's continúan siendo un reto en su tratamiento a nivel mundial (Castro y col., 2008). Las infecciones causadas por microorganismos productores de BLEE son difíciles de manejar por varias razones. En primer lugar, el tratamiento empírico consiste en antibióticos  $\beta$ -lactámicos que a menudo es ineficaz, excepto carbapenémicos como el imipenem. En segundo lugar, estos organismos tienden a ser también resistentes a otras clases de antimicrobianos como las fluoroquinolonas y aminoglucósidos (Muzahed y col., 2009).

Estos patógenos productores BLEE están asociados con hospitalización, especialmente con infecciones nosocomiales en infantes prematuros y pacientes de las unidades de cuidados intensivos, son causantes de neumonías, bacteriemias, infecciones del tracto urinario e infecciones de herida quirúrgica (Martínez y col., 2005). Existen factores de riesgo específicos para adquirir una cepa productora de BLEE, como una estadía prolongada en el hospital, la seriedad de la enfermedad, el tiempo de permanencia en la unidad de cuidados intensivos, la intubación y la respiración mecánica asistida, el uso de catéteres urinarios o arteriales y la exposición previa a los antibióticos (Sánchez y col., 2008). En los últimos años se está complicando la situación, ya que también se están detectando en bacterias de infecciones adquiridas en la comunidad, sobre todo en cepas de *E. coli* procedentes de muestras de orina y en heces de portadores sanos, hasta el 7,5%, así como en infecciones por *K. pneumoniae*, con lo cual cabe suponer que la extensión de las BLEE's es generalizada (Gobernado, 2005).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El HIES es un hospital de segundo nivel que atiende población pediátrica sin seguridad social, cuenta con 139 camas censables y 39 no censables.

### **Tipo de Estudio y Tamaño de la Muestra**

Se llevó a cabo un estudio descriptivo, prospectivo, con muestreo no probabilístico de casos consecutivos no repetitivos, en el que se incluyeron todos los aislamientos de *K. pneumoniae* y *E. coli* obtenidos en el laboratorio clínico del HIES del 07 de Febrero de 2012 al 06 de Agosto de 2012, causante o no de infección nosocomial, registrándose la sala hospitalaria, la muestra clínica de donde fueron aisladas y la edad del paciente. Todos los aislamientos identificados como probables productores de BLEE fueron conservados en caldo BHI con glicerol a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **Identificación de los Aislamientos y Resistencia a los Antibióticos**

El aislamiento de los microorganismos se realizó utilizando métodos de cultivo tradicionales en medios selectivos. La identificación hasta especie y las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos se llevaron a cabo en el laboratorio clínico del HIES, utilizando el sistema automatizado Vitek 2 (bioMérieux®), de acuerdo al procedimiento establecido por el fabricante.

### **Detección Fenotípica de Producción de BLEE**

Fueron considerados sospechosos de producción de BLEE los aislamientos con resistencia al menos a una cefalosporina de 3ra generación y/o al aztreonam.

## Método de Disco Difusión con Doble Disco

Método recomendado por el Instituto de Estándares para el Laboratorio Clínico (CLSI, 2008). Se estandarizó un inóculo en solución salina igualando la turbidez al estándar 0.5 de MacFarland a partir del desarrollo colonial de 12 hr de incubación. El inóculo se sembró masivamente en agar Mueller-Hinton. Posteriormente se colocaron discos con cefotaxima y ceftazidima con y sin ácido clavulánico (Glaxo Smith-Kline®). Después de una incubación a 37°C por 18-24 horas, se midieron los diámetros de los halos de inhibición. Un incremento  $\geq 5$  mm en el halo de inhibición en al menos uno de los antibióticos con clavulanato, en comparación al antibiótico sin clavulanato se consideró un aislamiento productor de BLEE (CLSI, 2008) (Figura 4). Se utilizaron las cepas control *E. coli* ATCC 25922, sensible a los antibióticos (control negativo) y *K. pneumoniae* ATCC 700603, productora de BLEE (control positivo).



Figura 4. Ensayo fenotípico de un aislamiento productor de BLEE.  
Fuente: Patricia García C, 2003.

## Registro de Sala Hospitalaria y Muestra Clínica

Utilizando el informe de laboratorio se registró la sala hospitalaria y la muestra clínica de donde fueron aislados todos los microorganismos que se obtuvieron durante el periodo de estudio, así como la edad y género del paciente.

### **Criterios de Exclusión**

Se excluyeron aquellos aislamientos de la misma especie que fueron considerados repetidos cuando fueron aislados del mismo paciente dentro de un intervalo de 7 días. Además de aquellos aislamientos que por alguna razón no pudieron ser conservados, por ejemplo aquellos que presentaban contaminación excesiva o no se adaptaron al medio de transporte y murieron.

### **Criterios de Inclusión**

Se incluyeron aquellos aislamientos resistentes al menos a una cefalosporina de tercera generación y/o al monobactámico aztreonam.





## **Análisis Estadístico**

Se realizaron gráficas (en el programa Excel), de las prevalencias de producción de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae*, muestras clínicas y salas hospitalarias de donde fueron aislados y la resistencia a los antibióticos de cada uno de los géneros bacterianos. Se compararon las prevalencias utilizando chi-cuadrado en el programa NCSS (2000), se consideró significativo una  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

### Aislamientos Totales

Durante el periodo comprendido de 07 de Febrero de 2012 al 06 de Agosto de 2012, se cultivaron e identificaron un total de 556 aislamientos bacterianos en el laboratorio clínico del HIES. Se recuperaron 342 aislamientos de *E. coli* (62.0%) y 214 de *K. pneumoniae* (38.0%) (Fig. 7), de los cuales, 75 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* y 35 de *Escherichia coli* (10.23%), fueron positivos para la producción de BLEE (35.04%) (Figs. 8 y 9).

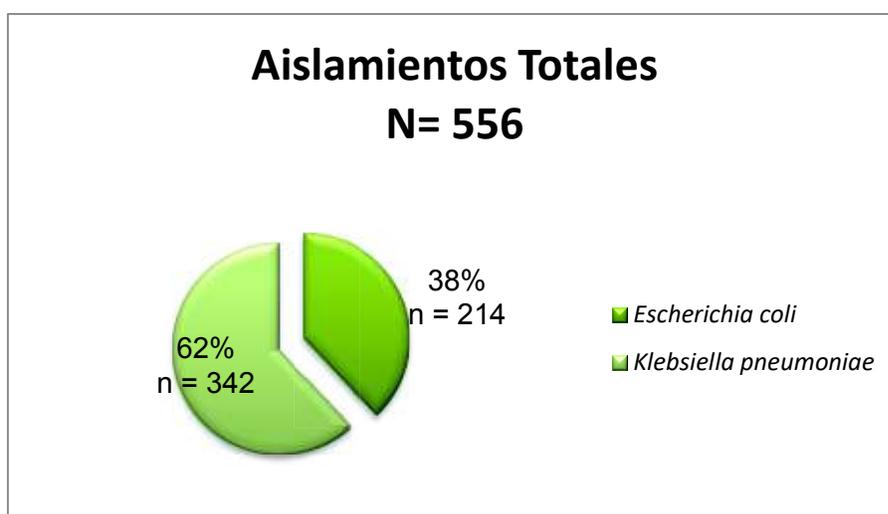


Figura 7. Distribución de aislamientos totales, posibles productores de BLEE recolectados en el HIES, durante el periodo Febrero- Agosto de 2012.

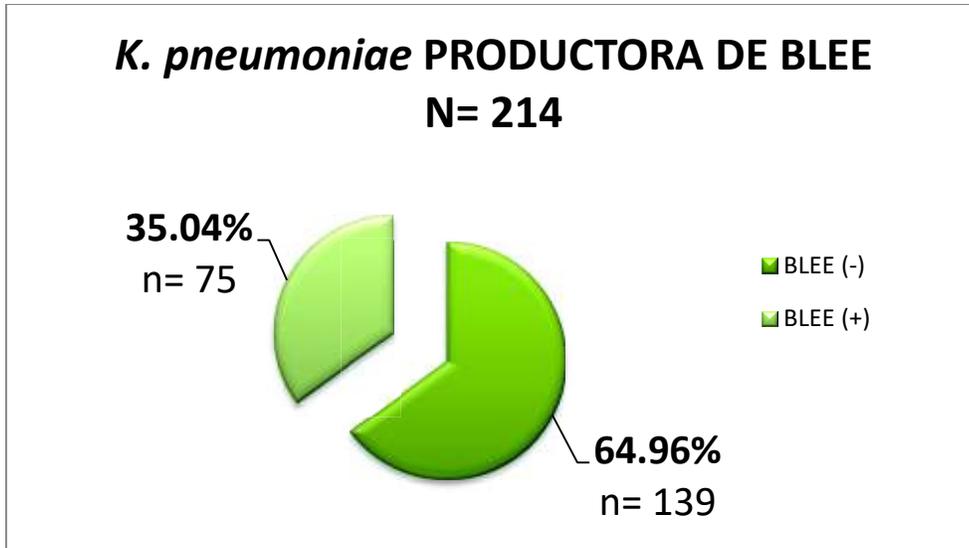


Figura 8. Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE en pacientes del HIES, Hermosillo, Sonora. Febrero-Agosto 2012.

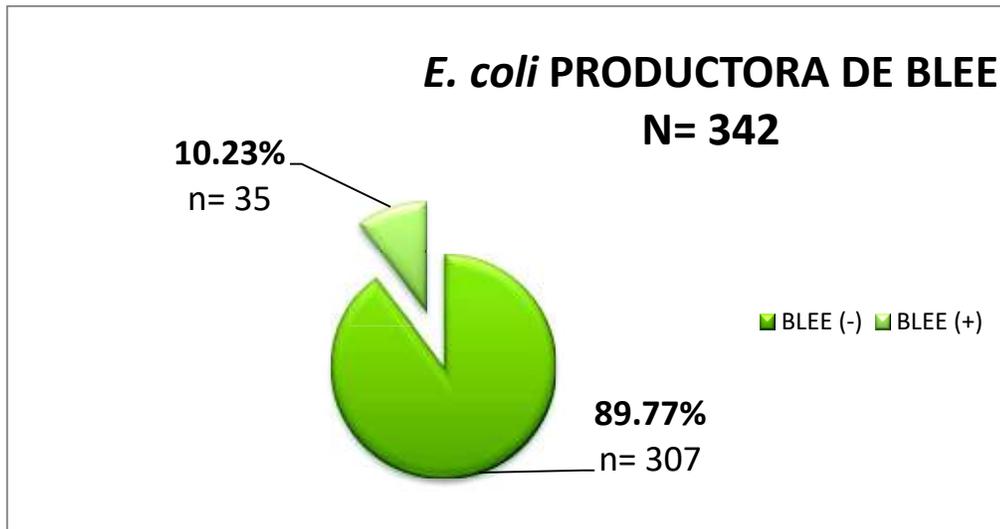


Figura 9. Prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE en pacientes del HIES, Hermosillo, Sonora. Febrero-Agosto 2012.

En el año 2008-2009 se realizó un estudio similar en el Hospital Infantil del Estado de Sonora (Navarro y col., 2011). Comparando los resultados obtenidos en el 2012 con los del 2008, encontramos que hubo un aumento en los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE del 27.7 al 35.0% sin embargo, no se encontró una diferencia significativa ( $p=0.141$ ). Para *E. coli* se observó una disminución no significativa de los aislamientos productores de BLEE del 14.7 al 10.2% ( $p=0.0746$ ) (Tabla 2).

**Tabla 2. Prevalencia de producción de BLEE en aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae*, en diferentes años en el HIES. Hermosillo, Sonora, Febrero – Agosto 2012**

	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>	
<b>AÑO</b>	2012 N=342	2008 N=339	2012 N=214	2008 N=148
<b>BLEE (+)</b>	35 (10.2%)	50 (14.7%)	75 (35.0%)	41 (27.7%)
<b>p</b>	0.0746		0.1410	

Existe diferente prevalencia reportada en distintas regiones geográficas. Se informa para América Latina una prevalencia de enterobacterias productoras de BLEE del 44.9%, Grecia 27.4%, Portugal 15.5% y Holanda 2.0%. Para México, Amábile-Cuevas (2012) informó una prevalencia de aislamientos de *E. coli* uropatógena resistente a ceftazidima del 8.0% y del 28.0% para *K. pneumoniae* productora de BLEE; en el presente trabajo se detectó una prevalencia semejante para ambos microorganismos.

La prevalencia de microorganismos productores de BLEE se ha incrementado en los últimos años alrededor del mundo. Nuestros resultados indican una disminución del 14.7 al 10.2% en la prevalencia del *E. coli* y un aumento del 27.7 al 35.0% para *K. pneumoniae* productoras de BLEE en el HIES, en relación con un estudio realizado en el periodo 2008-2009. El surgimiento de cepas productoras de BLEE en ambientes hospitalarios y comunitarios se relaciona principalmente con el uso desmedido de cefalosporinas de 3ª generación. Aunque

*E. coli* y *K. pneumoniae* son los principales productores de BLEE, también se han detectado en *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens*., (Bradford 2001).

En comparación con un estudio realizado por Navarro y col. (2005) en Octubre del 2002 a Abril del 2003 en el laboratorio clínico del HIES, donde se analizaron 120 aislamientos, 90 de *E. coli* y 30 de *K. pneumoniae*, la prevalencia total de aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de  $\beta$ LEE fue de 5.0%. Mientras que en este trabajo se ha constatado una prevalencia total de aislamientos productoras de BLEE del 19.0%, es decir un aumento de un 14% en menos de 10 años.

Un estudio multicéntrico realizado en España por Hernández y col. (2003), durante los meses de Marzo a Junio de 2000 en el que participaron 40 hospitales de todo el país se determinó una prevalencia de producción de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* del 0.5 y 2.7% respectivamente, menores a las encontradas en el presente estudio. En otra investigación multicéntrica realizada en España por Ángel y col. (2009), en el que participaron 44 hospitales se estudiaron 1,021 cepas de *E. coli* y 162 cepas de *K. pneumoniae*, la prevalencia global de producción de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* fue del 4,04 y del 5.04% respectivamente, lo que supone que los aislados de *E. coli* y de *K. pneumoniae* productoras de BLEE se han multiplicado por 8 y por 2, respectivamente, en 6 años.

Por otra parte Garzón y col. (2004), analizaron en el Hospital Occidente de Kennedy Nivel III, de Bogotá, durante el período comprendido entre el 20 de Noviembre de 2002 y el 30 Septiembre de 2003, 3,574 cultivos, en los cuales se identificaron 897 cepas de *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *E. coli*. La prevalencia para *E. coli* fue de 9.5%; para *K. pneumoniae*, de 43.5%, y para *Klebsiella oxytoca*, de 10.3%. Los índices de resistencia bacteriana más altos correspondieron a ceftriaxona y ceftazidima.

### **Sitio anatómico colonizado o infectado**

En el presente estudio, los aislamientos productores de BLEE encontrados con mayor frecuencia fueron del tracto urinario seguido del tracto gastrointestinal (TGI) y sangre (Tabla 3). En comparación al estudio realizado en el periodo 2008-2009, se encontraron prevalencias muy semejantes, excepto una disminución en la frecuencia de infecciones en el tracto urinario

causada por *E. coli* productora de BLEE y un aumento en la prevalencia de aislamientos del mismo microorganismo a partir del TGI.

En relación al estudio realizado en el año 2008-9, en el mismo HIES, no se encontró una diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) para los aislamientos de *K. pneumoniae* BLEE+ a partir de los diferentes tractos y sitios de infección. Lo mismo se observó para los aislamientos de *E. coli* BLEE+ excepto para el tracto urinario y el TGI, en los cuales se obtuvo una disminución y un aumento significativos respectivamente (Tabla 3).

**Tabla 3. Prevalencia de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE por sitio anatómico colonizado o infectado en el HIES. Hermosillo, Sonora, Febrero – Agosto 2012**

Tejido o tracto	Aislamientos de <i>K. pneumoniae</i> por año		<i>p</i>	Aislamientos de <i>E. coli</i> por año		<i>p</i>
	2012 N = 75 n(%)	2008-9 N = 41 n(%)		2012 N = 35 n(%)	2008-9 N = 50 n(%)	
Tracto urinario	30 (40.0%)	18 (43.9%)	0.6833	3 (8.6%)	33 (66.0%)	0.0000
TGI	17 (22.6%)	4 (9.7%)	0.0842	20 (57.1%)	3 (6.0%)	0.0000
Sangre	13 (17.3%)	9 (21.9%)	0.5441	4 (11.4%)	2 (4.0%)	0.1881
Catéter intravascular	7 (9.3%)	6 (14.6%)	0.7485	0 (0.0%)	4 (8.0%)	0.3546
Piel y tejido blando	5 (6.6%)	3 (7.3%)	0.8948	5 (14.3%)	7 (14.0%)	0.9703
Tracto respiratorio	3 (4.0%)	0 (0.0%)	0.3190	2 (5.7%)	0 (0.0%)	0.2674
Líquidos	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-	1 (2.9%)	1 (2.0%)	0.7975

Los microorganismos productores de BLEE son causantes de diversas infecciones que se manifiestan de forma endémica o epidémica en los hospitales. Los factores identificados como de riesgo para que un paciente sea colonizado por un microorganismo productor de BLEE son la administración de cefalosporinas de 3ª generación mientras que los factores para que se presente una infección son la gravedad de la enfermedad, una estancia hospitalaria prolongada y el uso de diversos dispositivos médicos (Levy SB, Marshall B., 2004). En el presente trabajo, los aislamientos productores de BLEE fueron aislados como causantes infecciones en el tracto urinario, gastrointestinal y sangre. Nuestros resultados concuerdan con estudios de vigilancia en

Europa donde los microorganismos productores de BLEE se aíslan principalmente del tracto urinario y como causantes de infecciones en sangre (Mahon CR y col., 2007). En un hospital de Beirut, Líbano, Daoud y Hakim., (2005) encontraron que las infecciones del tracto urinario causadas por *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE fueron las de mayor prevalencia, seguidas de las infecciones en sangre, piel y tracto respiratorio.

En España, Hernández y col., (2008) informaron del hallazgo de *E. coli* productora de BLEE como causante de infección urinaria hasta en un 50.0% de los casos estudiados. En Canadá, Mulvey y col., (2008) informaron que el tracto urinario es el principal sitio anatómico de donde se aíslan *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE en pacientes hospitalizados.

Los agentes productores de BLEE también son aislados como causantes de bacteriemia. La bacteriemia nosocomial causada por *K. pneumoniae* productora de BLEE es de gran preocupación clínica, ya que incrementa la posibilidad de aplicar una terapia equivocada que concluya con un desenlace fatal (Muzachiodi MI, Ferrer SM., 2005).

### **Prevalencia de aislamientos BLEE por Servicio Hospitalario**

La mayor prevalencia de aislamientos BLEE en general, se encontró en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), Medicina Interna, Oncología y UCIN para *K. pneumoniae*, mientras que *E. coli* fue aislado con mayor frecuencia de la Consulta Externa (Tabla 4).

En comparación con el estudio realizado por Navarro (2008) en el año 2012, *K. pneumoniae* sólo el servicio de Neonatología presentó una disminución significativa en cuanto a los aislamientos positivos para BLEE con una  $p=0.002406$ , los aislamientos en el resto de los servicios hospitalarios no presentaron un cambio significativo ( $p>0.05$ ). Para el caso de *E. coli* ninguno de los servicios presentó cambio significativo entre los estudios comparados ( $p >0.05$ ), excepto Consulta Externa, obteniendo  $p = 0.011852$  ( $p <0.05$ ), único servicio donde hubo un cambio significativo (Tabla 4).

**Tabla 4. Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productores de BLEE en el HIES. Hermosillo, Sonora, Febrero – Agosto 2012**

Servicio Hospitalario	Aislamientos de <i>K. pneumoniae</i> por año		<i>p</i>	Aislamientos de <i>E. coli</i> por año		<i>p</i>
	2012 N = 75	2008 N = 41		2012 N = 35	2008 N = 50	
UCI	14 (18.6%)	4 (9.7%)	0.205123	0 (0.0%)	5 (10.0%)	0.068325
Med. Interna	13 (17.3%)	6 (14.6%)	0.707281	1 (2.9%)	2 (4.0%)	0.778687
Oncología	10 (13.3%)	6 (14.6%)	0.845999	6 (17.1%)	5 (10.0%)	0.334254
UCIN	10 (13.3%)	6 (14.6%)	0.845999	4 (11.5%)	2 (4.0%)	0.188186
Infectología	8 (10.6%)	2 (4.8%)	0.288292	8 (22.9%)	4 (8.0%)	0.052864
C. Externa	6 (8.0%)	0 (0.0%)	0.075432	10 (28.6%)	4 (8.0%)	0.011852
Cirugía	6 (8.0%)	3 (7.3%)	0.895431	3 (8.6%)	2 (4.0%)	0.378016
Urgencias	5 (6.6%)	4 (9.7%)	0.552118	3 (8.6%)	4 (8.0%)	0.924857
Neonatología	3 (4.0%)	9 (21.9%)	0.002406	0 (0.0%)	4 (8.0%)	0.061390

En el presente estudio se observó una mayor proporción de aislamientos de las unidades de cuidados intensivos, medicina interna y oncología. Los microorganismos productores de BLEE se distribuyen en los hospitales de la misma manera que lo hacen otros microorganismos resistentes a los antibióticos, con mayor prevalencia en los servicios hospitalarios donde se encuentran pacientes con abundantes factores de riesgo para sufrir una infección como los servicios de cuidados intensivos, cirugía, pediatría, neonatología y oncología (Ovalle A, y col., 2000). Sin embargo, son cada vez más los informes del hallazgo de *E. coli* productora de BLEE causante de infección urinaria aislada de pacientes no hospitalizados. Coque y col., (2007) informaron que en Turquía, entre los años de 2004-2005, se observó una prevalencia del 21.0% en el aislamiento de *E. coli* productora de BLEE causante de infección en vías urinarias en pacientes no hospitalizados.

*K. pneumoniae* y *E. coli* productores de BLEE, son patógenos asociados con hospitalización, especialmente con infecciones nosocomiales en infantes prematuros y pacientes de las unidades de cuidados intensivos (Martínez y col., 2005).

Con respecto a estudios realizados en otras partes del mundo sobre la prevalencia de cepas productoras de BLEE en salas hospitalarias se observa con mayor frecuencia a estos microorganismos en unidades de cuidados intensivos y en neonatos, como lo menciona Martínez y col. (2005).

### **Resistencia a los Antibióticos en *E. coli* y *K. pneumoniae* Productores de BLEE**

Se evaluó la sensibilidad de las bacterias confirmadas como BLEE's con diferentes antibióticos, principalmente cefalosporinas de tercera generación y carbapenémicos, ya que dichos antibióticos son los utilizados principalmente para tratamientos de infecciones nosocomiales, encontrándose que los carbapenémicos (meropenem, imipenem y ertapenem) son los que inactivan con mayor facilidad, tanto a *E. coli* como *K. pneumoniae* mostrando una sensibilidad que va desde un 92.0% hasta 97.5% (Tabla 5).

En el estudio que comprende el periodo 2008- 2009 se realizó la evaluación de sensibilidad de estas bacterias a los mismos antibióticos, a excepción de Ertapenem, Tigeciclina y Moxifloxacino (Tabla 5).

Para el caso de *K. pneumoniae*, en los dos antibióticos carbapenems evaluados (Meropenem e Imipenem) no se observó un cambio significativo ( $p > 0.05$ ). Para los antibióticos ciprofloxacino, nitrofurantoina y tobramicina tampoco se observó dicho cambio; sin embargo para el caso de amikacina, gentamicina y trimetropim/sulfametoxazol este cambio si fue significativo obteniendo los siguientes valores de  $p=0.000415$ ,  $0.000001$  y  $0.0000$  respectivamente ( $p < 0.05$ )(Tabla 5).

En cuanto a *E.coli*, no se observó ningún cambio significativo para ninguno de los antibióticos evaluados ( $p > 0.05$ ). (Tabla 5).

**Tabla 5. Sensibilidad a los antibióticos de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE. Hermosillo, Sonora, Febrero – Agosto 2012**

Antibiótico	<i>K. pneumoniae</i>		<i>p</i>	<i>E. coli</i>		<i>p</i>
	2012 N = 75	2008 N = 41		2012 N = 35	2008 N = 50	
<b>Meropenem</b>	74 (98.6%)	40 (97.5%)	0.661866	35 (100%)	46 (92%)	0.086503
<b>Imipenem</b>	73 (97.3%)	40 (97.5%)	0.941136	35 (100%)	48 (96%)	0.231156
<b>Ertapenem</b>	71 (94.6%)	NE	-	35 (100%)	NE	-
<b>Tigeciclina</b>	71 (94.6%)	NE	-	21 (60.0%)	NE	-
<b>Moxifloxacino</b>	68 (90.6%)	NE	-	5 (14.2%)	NE	-
<b>Amikacina</b>	63 (84.0%)	22 (53.6%)	0.000415	31 (88.6%)	47 (94.0%)	0.370242
<b>Ciprofloxacino</b>	60 (80.0%)	35 (85.3%)	0.473069	3 (8.6%)	9 (18.0%)	0.219209
<b>Nitrofurantoína</b>	21 (28.0%)	18 (43.9%)	0.083068	21 (60.0%)	36 (72.0%)	0.246663
<b>Gentamicina</b>	15 (20.0%)	27 (65.8%)	0.000001	14 (40.0%)	18 (36.0%)	0.707953
<b>Tobramicina</b>	11 (14.6%)	12 (29.2%)	0.05935	4 (11.4%)	11 (22.0%)	0.208301
<b>Trimetoprim / sulfametoxazol</b>	9 (12.0%)	36 (87.8%)	0.0000	4 (11.4%)	9 (18.0%)	0.407433

NE: No evaluado

En el presente estudio, los microorganismos productores de BLEE mostraron una prevalencia homogénea y alta sensibilidad frente a los antibióticos carbapenémicos. La mayoría de los informes confirman que los carbapenémicos (imipenem, meropenem, ertapenem) son los antibióticos de primera elección para el tratamiento de las infecciones graves causadas por microorganismos productores de BLEE (Brooks GF y col., 2008). Estos antibióticos son estables a la acción hidrolítica de las BLEE. Sus principales desventajas son su alto costo, la vía de administración parenteral y que durante la terapia pueden aparecer infecciones causadas por levaduras e inducir el surgimiento de cepas resistentes a los carbapenémicos (Brooks GF y col., 2008). Los microorganismos productores de BLEE comúnmente expresan mecanismos de resistencia a fluoroquinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas (excepto gliciliclinas) y trimetoprim/sulfametoxazol (Castro Alarcón N y col., 2008). Los aislamientos de *K. pneumoniae* en el HIES, mostraron sensibilidad a tres antibióticos, los carbapenémicos, moxifloxacino y amikacina. Sin embargo, las fluoroquinolonas como moxifloxacino no están indicadas para su uso en pacientes pediátricos debido a que pueden inflamarse los cartílagos de las extremidades (Fuente: <http://quinolonasfarma.files.wordpress.com/2010/09/fluoroquinolonas1.pdf>). Estos hallazgos son importantes ya que la prescripción de antibióticos frente a infecciones causadas

por agentes productores de BLEE se apoya en los resultados de antibiogramas de los laboratorios de cada hospital, además de considerar los síntomas, hallazgos de laboratorio y la historia clínica. La resistencia bacteriana a diferentes clases de antibióticos, incluyendo la producción de BLEE, se encuentra relacionada a la presencia de uno o varios plásmidos, lo que pueden ser transferidos por conjugación. Poirel y col., (2005) informaron la identificación de un plásmido en *Enterobacter cloacae* que codifica para producción de BLEE y resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas, lo que puede ser una explicación parcial para la asociación existente entre la producción de BLEE y resistencia a fluoroquinolonas. Las principales limitantes del presente estudio son que no se diferenció entre infección urinaria complicada o no complicada y que los resultados no deben extrapolarse a otras regiones con diferentes situaciones epidemiológicas.

## CONCLUSIONES

Este estudio reveló la ocurrencia de aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE en el HIES durante seis meses de vigilancia epidemiológica. Aunque la prevalencia de productores de BLEE no presentó niveles alarmantes, se recomienda reforzar las medidas para el control de infecciones y las políticas de uso de antibióticos. El estudio reveló que después de 4 años, la prevalencia de ambos microorganismos en el HIES no ha sufrido cambios significativos. Tanto *K. pneumoniae* como *E. coli* se distribuyeron en los distintos servicios hospitalarios, con mayor prevalencia en la UCI y medicina interna para el primero y la consulta externa para el segundo. Debido a su alta prevalencia de sensibilidad, los antibióticos carbapenémicos siguen siendo los de elección para el tratamiento de infecciones graves causadas por los productores de BLEE. Los resultados de la resistencia de los aislamientos productores de BLEE pueden ser utilizados por los médicos al momento de la toma de decisiones terapéuticas cuando se sospeche que dichos microorganismos están causando una infección.

## REFERENCIAS

1. Agrawal P, Ghosh AN, Jumar S, Basu B, Kapila K. Prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary care hospital. Indian J Path Microbiol 2008; 51:139-142.
2. Amábile-Cuevas CF. Antibiotic resistance in Mexico: a brief overview of the current status and its causes. J Infect Dev Ctries 2010; 4:126-131.
3. Andrade V. Grupo de Resistencia Bacteriana, Silva J., Caracterización de *Klebsiella pneumoniae* productora de la  $\beta$ -lactamasa SHV-5, en una unidad de cuidados intensivos. Salud Pública Méx 2004; 46:524-528.
4. Díaz M, Hernández JM, Martínez-Martínez L, Rodríguez-Baño J, Pascual A y Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico (proyecto GEIH- $\beta$ LEE 2006). Enferm Infecc Microbiol Clin 2009; 09:56-62.
5. Barcelona L, Marin M, Stamboulian D. Betalactámicos con inhibidores de betalactamasas; Medicina 2008; 68:65-74.
6. Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol 2001; 14:933-951.
7. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg; 19ª Edición; Editorial El Manual Moderno 2008; pgs: 261- 267.
8. Castro N, Carreó ED, Moreno ME, Alarcón LC. Caracterización molecular de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en aislamientos clínicos de *Escherichia coli*. Enf Inf Microbiol 2008; 28:114-120.
9. Cavalieri SJ. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. American Society for Microbiology 2005; QR17 7.M37.
10. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute 2008; M100-S18. Wayne, PA.
11. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing enterobacteriaceae in Europe. Eurosurveillance 2008; 13:1-11.

12. Daoud Z, Hakime N. Prevalence and susceptibility patterns of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a General University Hospital in Beirut, Lebanon. *Rev Esp Quimiot* 2003; 16:233-238.
13. Ewing WH., Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae , 4th. Edition, Elsevier 1985. 581-582.
14. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing organisms. *J Hosp Inf* 2009; 73:345-354.
15. Fish DN. Meropenem in the treatment of complicated skin and soft tissue infections. *Ther Clin Risk Manag* 2006; 2:401-415.
16. Gaillot O, Marújouls C, Abachin E, Lecuru F, Arlet G, Simonet M y col. Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase, originating from a contaminated ultrasonography gel. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1357-1360.
17. Garza-Ramos U, Martínez-Romero E, Silva-Sánchez J. SHV-type Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) are encoded in related plasmids from enterobacteria clinical isolates from México. *Salud Pública Méx* 2007; 49: 415-421.
18. Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7:597-608.
19. Gobernado M. Betalactamasas de espectro extendido en aumento. *Rev Esp Quim* 2005; 18:115-117.
20. Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L. Grupo de estudio de infección hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de beta-lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clín* 2003; 21:77-82.
21. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST, Bergey's. *Manual of Determinative Bacteriology*; 9ª Edition; Editorial Lippincott Williams & Wilkins 2009; pgs: 179-181.
22. Karlowsky JA, Sahm DF. Antibiotic resistance –is resistance detected by surveillance relevant to predicting resistance in the clinical setting? *Curr Opin Pharmacol* 2002; 2:487-492.
23. Katz OT, Peled N, Yagupsky P. Evaluation of the current National Committee for Clinical Laboratory Standards guidelines for screening and confirming extended-spectrum beta-lactamase production in isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* species from bacteremic patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23:813-817.
24. Kmietowics K. La OMS advierte sobre "superbacterias". *BMJ (Ed. Latinoam)* 2000; 8:15-16.

25. Koneman E W, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas en color; 6ª edición; Editorial Médica Panamericana USA, 2008; pgs: 164- 605.
26. Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. Nature Medicine 2004; 10: S122-129.
27. Luzzaro F, Mezzatesta M, Mugnaioli C, Perilli M, Stefain S, Amicosante G, y col. Trends in production of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases among enterobacteria of medical interest: report of the second Italian nationwide survey. J Clin Microbiol 2006; 44:1659-1664.
28. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology; 3ª Edición; Editorial Saunders Elsevier 2007; pgs: 503-513.
29. Martínez P, Espinal P, Bustos A, Mattar S. Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería. Med UNAB 2005; 8:15-22.
30. Máttar S, Martínez P. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEE): detección, impacto clínico y epidemiología. Infectio 2007; 11: 23-35.
31. Mulvey MR, Bryce E, Boyd D, Ofner-Agostini M, Christianson S, Simor AE, y col. Ambler class A extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Canadian hospitals. Antimicrobial Agents Chemother 2004; 48:1204-1214.
32. Muzachiodi MI, Ferrer SM. Incidencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido 2005; Resumen: M-135.
33. Muzahed YD, Adams-Haduch JM, Shivannavar CT, Paterson DL, Gaddad SM. Faecal carriage of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in patients with acute gastroenteritis. Indian J Med Res 2009; 129:599-602.
34. Navarro M, Moreno BO, López BE, Frago MC, Sánchez JA. Detección de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido ( $\beta$ LEE) en el Hospital Infantil del Estado de Sonora. Bol Clin Hosp Inf Edo Son 2005; 22:64-70.
35. Neidhardt FC. *Escherichia coli* and *Salmonella*: cellular and molecular Biology. 2nd edition. ASM Press, Washington 1999.
36. Orman B. La resistencia bacteriana y sus mecanismos de dispersión. Revista de la Facultad de Odontología (UBA2) 2006; 21:50-51.

37. Ovalle A, Martínez MA, Wolf M, Cona E, Valderrama O, Villablanca E, y col. Estudio prospectivo randomizado comparativo de la eficacia, seguridad y costos de la cefuroxima versus ceftradina en pielonefritis aguda en el embarazo. *Rev Méd Chile* 2000; 128:749-757.
38. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:657-686.
39. Perozo-Mena A, Castellano-González M, Ginestre-Pérez M., Harris B. Caracterización molecular y detección de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas en las unidades de cuidados intensivos de un Hospital Universitario. *Kasmera* 2007; 35:91-106.
40. Pfaller MA, Segreti J. Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Inf Dis* 2006; 42:S153-S163.
41. Pitout JDD, Laupland KB. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 2008; 8:159-166.
42. Poirel L, Van De Loo M, Mammeri H, Nordmann P. Association of plasmid-mediated quinolone resistance with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase VEB-1. *Antimicrobial Agents Chemother* 2005; 49:3091-3094.
43. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, de Cueto M, Rios MJ y col. Bacteremia due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Inf Dis* 2006; 43:1407-1414.
44. Romero CR. Microbiología y Parasitología Humana Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias; 3ª Edición; Editorial Médica Panamericana 2007; pgs: 746, 753 y 805.
45. Sánchez L, Ríos J, Máttar S. Detección de beta-lactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* aislados en una clínica de Villavicencio, Colombia. *Asociacion Colombiana de Infectologia* 2008; 12:193-200.
46. Sharma J, Ray P, Sharma M. Plasmid profile of ESBL producing gram-negative bacteria and correlation with susceptibility to  $\beta$ -lactam drugs. *Indian J Path Microbiol* 2010; 53:83-86.
47. Slama TG. Gram-negative antibiotic resistance: there is a price to pay. *Critical Care* 2008; 12(Suppl 4):S4
48. Smith RD, Coast J. Antimicrobial resistance: a global response. *Bulletin of WHO* 2002; 80:126-133.
49. Todisoa A, Randrianirina F, Ratsima-Hairiniana E, Talarmin A, Raobijaona H, Buisson Y, y col. High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing

- Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric unit in Madagascar. BMC Infect Dis 2010; 10:204-211.
50. Umbarello M, Spanu T, Sanguinetti M, Citton R, Monturi E, Leone F, y col. Bloodstream infections caused by extended-spectrum- $\beta$ -lactamases-producing *Klebsiella pneumoniae*: risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. Antimicrobial Agents Chemother 2006; 50:498-504.
51. Vidal JE, Canizález-Román A, Gutiérrez-Jiménez J, Navarro-García F. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. Salud Pública Méx 2007; 49:376-386.