



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Medicina

HOSPITAL CENTRAL NORTE DE PETRÓLEOS MEXICANOS

**PATRÓN DE RESISTENCIA A QUINOLONAS EN ENTEROBACTERIAS CON BETALACTAMASA DE
ESPECTRO EXTENDIDO EN HOSPITAL CENTRAL NORTE DE PEMEX EN EL AÑO 2014**

Tesis de postgrado
Para obtener título de especialista en Medicina Interna

Presenta
Médico cirujano Triana Gabriela Salgado Muñoz

Director de tesis: José Oscar Terán González

Asesores de tesis:
Dra. Sheila Vázquez Arteaga
Dr. Emilio Reyes Jiménez
Dr. Luis Javier Castro de Franchis

México D.F. Julio 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**PATRÓN DE RESISTENCIA A QUINOLONAS EN ENTEROBACTERIAS CON
BETALACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO EN HOSPITAL CENTRAL
NORTE DE PEMEX EN EL AÑO 2014**

ÍNDICE

- 1.- INTRODUCCIÓN
- 2.- MARCO TEÓRICO
 - 2.1 FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE
 - 2.1.1 EPIDEMIOLOGIA
 - 2.1.2 CARACTERÍSTICAS ANTIGÉNICAS ESTRUCTURALES Y DE SUPERFICIE
 - 2.1.3 FACTORES DE VIRULENCIA
 - 2.2 ANTIBIÓTICOS BETALACTAMICOS
 - 2.2.1 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS BETALACTAMICOS
 - 2.2.2 CLASIFICACIÓN
 - 2.2.3 ESTRUCTURA QUÍMICA
 - 2.2.4 MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA
 - 2.3 BETALACTAMASAS
 - 2.4 BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO
 - 2.4.1 EPIDEMIOLOGIA
 - 2.4.2 TIPOS DE BLEE
 - 2.4.3 FACTORES DE RIESGO PARA COLONIZACIÓN O INFECCIÓN POR BLEE
 - 2.4.4 RESISTENCIA BACTERIANA CON OTROS ANTIBIÓTICOS
 - 2.4.5 TRATAMIENTO PARA LAS INFECCIONES POR BACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE
 - 2.4.6 MÉTODOS FENOTÍPICOS DE DETECCIÓN DE BLEE
- 3.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
 - 3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN
- 4.-JUSTIFICACIÓN
5. HIPÓTESIS
- 6.-OBJETIVOS
- 7.-MATERIAL Y MÉTODOS
 - 7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO
 - 7.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES
 - 7.3 UNIVERSO DE TRABAJO Y MUESTRA
 - 7.4 INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN
 - 7.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN
 - 7.6 DESARROLLO DEL PROYECTO
 - 7.7LÍMITE DE TIEMPO Y ESPACIO
 - 7.8 CRONOGRAMA
- 8.-TABLAS, GRÁFICAS Y RESULTADOS
- 9.- IMPLICACIONES ÉTICAS
- 10.-DISCUSIÓN
- 11.-CONCLUSIÓN
- 12.-RECOMENDACIONES
- 13.-ORGANIZACIÓN
- 14.-BIBLIOGRAFÍA
- 15.- ANEXOS

ABREVIATURAS

1. BLEE Betalactamasas de espectro extendido
2. CMI Concentración mínima inhibitoria
3. NCCLS National Committee for Clinical Laboratory Standards
4. E. COLI Escherichia coli
5. K. PNEUMONIAE Klebsiella pneumoniae
6. K. OXYTOCA Klebsiella oxytoca
7. P. AUREGINOSA Pseudomona aureginosa
8. H. INFLUENZAE Haemophilus influenzae
9. N. GONORRHOEAE Neisseria gonorrhoeae
10. C. KOSERI Citrobacter koseri
11. S. MARCESCENS Serratia marcescens
12. A. BAUMANNII Acinetobacter baumannii
13. ADN ácido desoxirribonucleico
14. PBP proteína de unión a la peniclina
15. EDTA ácido etildiaminotetraacetico
16. CLSI Instituto de estándares laboratoriales y clínicos
17. UTI unidad de terapia intensiva
18. SSS Social Science Statistics
19. χ^2 Chi cuadrada

1. INTRODUCCIÓN

Las Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) se encuentran ampliamente distribuidas entre el grupo de las Enterobacteriaceae, estas enzimas son mediadas por plásmidos las cuales actúan hidrolizando los antibióticos betalactámicos, incluyendo al grupo oximino como las cefalosporinas de tercera generación, cuarta generación y aztreonam. (1) En la actualidad constituyen un importante mecanismo de resistencia antimicrobiana mostrando un importante incremento en las últimas décadas lo que repercute en el pronóstico y mortalidad de los pacientes portadores de tales microorganismos. (2) (3)

Estas enzimas derivan por mutación de las betalactamasas de amplio espectro presentes en la mayor parte de las enterobacterias y se encuentran con mayor frecuencia en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, sin embargo también se ha identificado en otras especies como *Proteus*, *Serratia* y *Salmonella* spp.

Klebsiella pneumoniae, *Enterobacter cloacae* y *Escherichia coli* BLEE son los microorganismos que causan mayores índices de morbilidad y mortalidad. (4) Estos microorganismos son un problema de salud en hospitales por lo que es de suma importancia identificar brotes.

La distribución de los diferentes tipos de BLEE varía de País a País, de forma general las tipo TEM predominan en Estados Unidos y se han convertido en importantes patógenos generadores de infecciones nosocomiales en pacientes pediátricos. Mientras tanto las de tipo SHV se han reportado con mayor frecuencia en México, América Latina y Europa. (5) La familia CTX-M se identificó en diversas regiones de América del Sur, Oeste de Europa, Japón y recientemente España, Kenia y México. (6)

En México, las BLEE SHV-2, SHV-5 y TLA-1 han sido identificadas en cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli*, causando brotes hospitalarios. En estos estudios, los genes se localizaron en plásmidos transferibles que contenían a su vez otras determinantes de resistencia confiriéndoles resistencia a antibióticos no betalactámicos como aminoglucósidos, cloranfenicol, tetraciclinas y quinolonas contribuyendo a la diseminación de las BLEE entre diferentes tipos de cepas de enterobacterias. (7)

La amplia diseminación mundial de los bacilos Gram negativos con BLEE ha ocurrido de forma paralela con el incremento en el consumo de antibióticos principalmente las cefalosporinas de tercera generación. La presión selectiva, sobretudo de las cefalosporinas, se ha señalado como factor desencadenante de brotes epidémicos producidos por *K. pneumoniae*-BLEE y del mantenimiento de situaciones de endemia elevada. (8)

En ambientes en donde se detectan endémicamente la presencia de bacilos Gram negativos productores de BLEE se vuelve relevante también la presión selectiva de que

ejercen otros grupos de antibióticos como las quinolonas, pues múltiples estudios las consideran como terapia alternativa a los carbapenémicos en caso de haber sensibilidad in vitro. (9) (10) Los carbapenémicos como es bien sabido son la terapia de elección sin embargo también se han documentado resistencia a estos mismos principalmente a patógenos nosocomiales como *P. aureginosa* y *Acinetobacter baumannii*. (11) (12)

En algunos estudios se han identificados como factores de riesgo para resistencia a quinolonas la adquisición nosocomial, el uso previo de quinolona o aminoglucósido al menos 30 días previos al crecimiento de la cepa BLEE y el ser paciente de asilos o de centros de cuidados de la salud. (13)

Las infecciones por organismos productores de BLEE tienen un impacto relevante en el curso clínico de los pacientes con infecciones graves asociadas a estos. Se ha observado un retardo significativo en el inicio del tratamiento antimicrobiano efectivo, hospitalización más prolongada y mayor coste hospitalario global. (4)

A nivel de nuestro medio hospitalario se ha podido constatar un uso indiscriminado de las cefalosporinas de tercera generación, quinolonas y aminoglucosidos tanto en el primer contacto como a nivel hospitalario, esto de no ser modificado nos afectaran incrementando la resistencia a quinolonas para las enterobacterias productoras de BLEE limitando así nuestras opciones terapéuticas.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

La familia de Enterobacteriaceae pertenece al dominio Bacteria, filo proteobacteria, clase gammaproteobacteria y orden Enterobacteriales. Los miembros de esta familia son anaerobios facultativos, gramnegativos, no formadores de esporas, que fermentan glucosa y otros azúcares. Reducen el nitrato a nitrito y producen catalasa pero no producen oxidasa. (15) Comprende los siguientes géneros y especies relevantes desde el punto de vista médico:

TABLA 218-1 Géneros y especies de la familia Enterobacteriaceae con importancia médica	
Género	Especie
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i> <i>koseri</i> <i>amalonaticus</i>
<i>Edwardsiella</i>	<i>tarda</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i> <i>aerogenes</i> <i>sakasakii</i>
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i> <i>albertii</i>
<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i> <i>oxytoca</i> <i>granulomatis</i>
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>
<i>Pantoea</i> (anteriormente <i>Enterobacter</i>)	<i>agglomerans</i>
<i>Plesiomonas</i>	<i>shigelloides</i>
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i> <i>vulgaris</i>
<i>Providencia</i>	<i>stuartii</i> <i>rettgeri</i>
<i>Salmonella</i>	<i>enterica</i>
<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>
<i>Shigella</i> (pertenece a las especies <i>E. coli</i>)	<i>dysenteriae</i> <i>flexneri</i> <i>sonnei</i> <i>boydii</i>
<i>Yersinia</i>	<i>pestis</i> <i>enterocolitica</i> <i>pseudotuberculosis</i>

Mandell, G.L., J.E. Bennet, et al. (2010) "Principles and Practice of Infectious Diseases" tomo 2: 2818 Tabla 218-1, 7ma Edición

2.1.1 Epidemiología

El hábitat natural de las Enterobacteriaceae es del tracto gastrointestinal inferior de los humanos y otros animales, pero se pueden encontrar en el agua y el suelo. Los diabéticos y alcohólicos suelen presentar tasas elevadas de colonización por estas bacterias. (16) Así mismo se ha observado la colonización de orofaringe con rapidez en pacientes hospitalizados, las mujeres con diafragmas y/o agentes espermicidas como

medios de anticonceptivos y las postmenopáusicas en quienes puede producir ulteriores infecciones extra intestinales. (17)

Los miembros de la familia Enterobacteriaceae son agentes causales de una amplia variedad de infecciones tanto en la comunidad como el ámbito hospitalario. La proporción de aislados resistentes a múltiples antimicrobianos, incluyendo a aquellos que producen betalactamasas de espectro extendido y los que son resistentes a fluoroquinolonas, han aumentado de forma interrumpida. (15)

2.1.2 Características antigénicas estructurales y de superficie

Las enterobacterias son microorganismos en forma de bastón de 1-3 μm de largo y 0.5 μm de diámetro. Tienen numerosos apéndices de superficie como los pilis y flagelos. El citoplasma no tiene orgánulos encerrados en una membrana, por lo tanto no hay núcleo, y el genoma habitualmente formado por un cromosoma, puede englobar múltiples plásmidos de distintos tamaños, hallándose disperso en el interior del citoplasma. Tampoco tienen retículo endoplásmico, y su respiración tiene lugar en la membrana citoplasmática más que en la mitocondrias.

Como microorganismos Gram negativos tienen membrana fosfolipídica interna como externa las cuales encierran espacio periplasmático contenedor de la pared celular de peptidoglucano.

2.1.3 Factores de virulencia

La capacidad de causar enfermedades es muy variable, estos engloban flora comensal, raras veces perjudicial, patógenos oportunistas susceptibles a ocasionar una morbilidad y mortalidad considerable en huéspedes comprometidos y patógenos potentes capaces de provocar enfermedades en personas con perfecto estado de salud. A continuación mencionaremos generalidades de los factores de virulencia:

- Adhesinas: parte del dogma aceptado de la patogenia microbiana mantiene que la adherencia inicial del patógeno a las células huésped es un requisito previo absoluto para generar enfermedad. Estas adhesinas microbianas se unen de manera selectiva y con avidez a receptores afines sobre la superficie de los huéspedes con objeto de vencer la repulsión electrostática que resulta de la carga negativa presente tanto en las células del huésped como en las microbianas. (fimbrias y proteínas de membrana externa) (15)
- Sistemas de secreción y toxinas: las bacterias liberan toxinas al medio ambiente o las dirigen a las células del huésped. Las toxinas de las enterobacterias no suelen reproducir la enfermedad en ausencia de las bacterias que las producen por lo que desempeñan papeles secundarios o desconocidos en la patogenia. Muchos miembros de la familia Enterobacteriaceae generan toxinas susceptibles de causar lisis de las células del huésped. (15)
- Adquisición de hierro: se sabe que los microorganismos compiten con su huésped para adquirir el hierro al colonizar e invadir los tejidos de mamíferos. Las enterobacterias han diseñado sistemas eficientes para rescatar el hierro, estos se

encuentran bajo control de proteína reguladora ubicua llamada Fur, la cual activa la transcripción génica con concentraciones bajas de hierro. (18)

- Lipopolisacárido y capsulas: los lipopolisacáridos no son considerados verdaderos factores de virulencia, son un componente esencial de la membrana externa, tienen diferentes composiciones químicas con diferentes actividades y potencias biológicas. El componente antígeno O, tiene propiedades biológicas que influyen también en la virulencia. (19) En cuanto a las capsulas estas dotan a la bacteria la capacidad de evitar la fagocitosis e impedir que sea matada por el suero humano. (20)
- Plásmidos: los plásmidos, elementos de ADN extra cromosómicos de replicación autónoma, no son factores de virulencia en sí mismos. Sin embargo pueden desempeñar papeles principales en la patogenia. Además, pueden auto transmitirse, codificando sistemas elaborados que especifican la producción de pili para la transferencia de ADN. (21) La aparición y diseminación de plásmidos R con amplio intervalo de huéspedes que contienen genes de resistencia antimicrobiana ha sido un factor fundamental en la diseminación global de bacterias resistentes a múltiples antibióticos. Estos genes están presentes en los transposones, lo que les permite saltar a otros plásmidos o cromosomas. También pueden encontrarse en integrones que cuentan con loci distales en donde se insertan genes de resistencia. (22)

2.2 ANTIBIOTICOS BETALACTAMICOS

Los antibióticos betalactámicos se consideran hoy en día como el principal grupo de antibióticos más utilizados para una gama de procesos infecciosos tanto adquiridos en la comunidad como nosocomiales. En 1928 Fleming analizó el efecto inhibitorio de un hongo filamentoso conocido como *Penicilium* sobre el crecimiento de bacterias en un cultivo, (23) pero es hasta la década 1940 cuando se inicia la producción industrial de la penicilina G en Estados Unidos (15)

Son consideradas como moléculas químicamente diversas que tienen en común la presencia de un anillo betalactámico en su estructura, formado por la condensación de alanina y beta dimetilcisteína. Estas moléculas se encargan de modelar la configuración de la capa del peptidoglicano y guían la reorganización durante la división de las bacterias. Estas proteínas de membrana se conocen como proteínas fijadoras de penicilina. (15) (24)

2.2.1 Mecanismo de acción de los betalactámicos

Los antibióticos betalactámicos tienen acción bactericida lo que implica que actúan a través de la inhibición de la síntesis de peptidoglicano y por consiguiente inhiben la síntesis de la pared bacteriana. (15) (23) (24)

También actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano. (24)

2.2.2 Clasificación

A continuación en la siguiente tabla se presentara la clasificacion de los betalactámicos:.

Clase	Tipos	Antibióticos
Penicilinas	Bencilpenicilinas	Bencilpenicilina procaina Bencilpenicilina benzatina
	Alquilpenicilinas	Fenoximetilpenicilina benzatina
	Isoxazolpenicilinas	Cloxacilina
	Aminopenicilinas	Amoxicilina/ampicilina
	Ureidopenicilinas	Piperacilina
Inhibidores betalactamasa	de Sulfonas del acido penicilanico	Sulbactam Tazobactam Acido clavulanico
	Oxapenamas o clavamas	
Cefalosporinas	Primera generacion	Cefazolina Cefalexina
	Segunda generacion	Cefonicid Cefuroxima Cefaclor
	Tercera generacion	Cefotaxima Ceftriaxona Ceftazidima Cefixima Cefibuteno
	Cuarta generacion	Cefepime Cefpiroma
Cefamicinas	Cefalosporinas de 2nda generacion parenterales	Cefoxitina
Monobactamicos monobactamas	o	Aztreonam
Carbapenemicos carbapenemas	o Carbapenemas	Imipenem
	4 beta metilcarbapenema	Meropenem
	1 beta metilcarbapenema	Ertapenem

Mandell, G.L., J.E. Bennet, et al. (2010) "Principles and Practice of Infectious Diseases" toma 1: 881-883, tomo 2: 2567-2586. 7ma Edición

2.2.3 Estructura química

Como se comentó previamente son antibióticos que contienen un anillo betalactámico y un anillo de tiazolidina, formando el ácido 6-aminopenicilanico el cual deriva de una

molécula de valina y una de cisteína para formar el doble anillo característico. Tienen una cadena lateral la cual va a variar de una penicilina y otra en la posición 6 del anillo betalactámico característica que define sus propiedades. (15)

Penicilinas

Según el espectro de su acción se dividen en 5 subgrupos

- I. Penicilinas de primera generación: actividad frente a bacterias Gram-positivas no productoras de betalactamasas, bacterias anaerobias y algunos cocos Gram-negativos.
- II. Penicilinas semi sintéticas resistentes a penicilinasas: tratamiento para infecciones por *Staphylococcus*.
- III. Aminopenicilinas: actúan frente a cocos Gram negativos, enterobacterias no productoras de betalactamasas y enterococos.
- IV. Ureidopenicilinas y carboxipenicilinas: actividad frente a bacilos Gram-negativos aerobios.

Cefalosporinas

Su estructura surge de la unión de un anillo dihidrotiacínico y un anillo betalactámico. Se clasifican según el orden de aparición:

- I. Primera generación: activas frente a estafilococos no productores de betalactamasas
- II. Segunda generación: amplían el espectro para bacterias Gram-negativas de origen comunitario.
- III. Tercera generación: activas frente a bacterias Gram-negativas de origen nosocomial
- IV. Cuarta generación: activas frente a bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y *Pseudomonas*.

Carbapenemes

Su estructura surge de la unión del anillo betalactámico y un anillo pirrolidinico compartiendo un nitrógeno. Estos antibióticos tienen la característica de ser estables frente a las betalactamasas por lo que les confiere una cobertura más amplia. Son activos frente a bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y anaerobias.

Monobactames

Estos antibióticos son derivados del ácido 3-aminomonobactámico. Su estructura betalactámica es sencilla con una estructura monocíclica en la que el anillo betalactámico no está fusionado a otro secundario. Su representante único es el Aztreonam el cual es

activo frente a bacterias Gram-negativas aerobias. Este antibiótico es muy sensible a la hidrólisis de las betalactamasas bacterianas, tanto las codificadas por plásmidos de tipo TEM-1, TEM-2, OXA-2, OXA-3, PSE-1, PSE-3, PSE-4 y SHV-1, como las determinadas por el cromosoma. Es poco inductor de betalactamasas lo que confiere importancia en referencia a la aparición de resistencias.

Inhibidores de las betalactamasas

Estos antibióticos se clasifican en competitivos, si el inhibidor y el sustrato compiten por el lugar activo de la enzima o no competitivo, si no se producen interferencias entre el inhibidor y el sustrato, se unen a diferentes lugares de la enzima.

Su inhibición puede ser reversible, si la enzima permanece inactiva. La inhibición irreversible se conoce como inhibición suicida en la que la enzima queda covalentemente modificada e inactiva y el inhibidor se auto-destruye. Se incluye en este grupo al ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam.

El sulbactam es una sulfona semi sintética del ácido penicilánico, ácido clavulánico tiene un núcleo similar al ácido penicilánico de las penicilinas pero se sustituye el átomo de azufre por uno de oxígeno y tazobactam se caracteriza por tener un grupo triazol en posición 3.

2.2.4 Mecanismos de resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana se define como la condición microbiológica caracterizada por la capacidad bacteriana natural o adquirida de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico (25). Habitualmente se encuentran mediadas por genes cromosómicos la cual aparece por mutación o material extra cromosómico (plásmidos o transposones) el cual es auto transferible entre bacterias. Esta transferencia se realiza a través de diversos mecanismos como la transformación, conjugación y transducción. (15)(24).

En los bacilos Gram-negativos la resistencia a los antibióticos betalactámicos se divide en los siguientes mecanismos:

- 1) Alteraciones de la permeabilidad: surgen mutaciones a nivel de las porinas proteicas de las membranas externas de las bacterias lo que lleva a una disminución de la concentración del antibiótico en el interior de la célula.
- 2) Producción de enzimas: las betalactamasas son enzimas con naturaleza proteica cuya síntesis está controlada por un gen, bien cromosómico o bien transferido por plásmidos. Estas enzimas se unen al grupo carboxilo y rompen el enlace amídico del anillo betalactámico llevando a una incapacidad de unión a las PBP. En las bacterias Gram-negativas las enzimas se encuentran en el espacio peri

plasmático y atacan al antibiótico antes de que alcance a su receptor (26). Su producción puede ser constitutiva (se producen siempre) o inducible (se producen solo ante la presencia del antibiótico). Las betalactamasas cromosómicas tienen las dos características mientras que las plasmídicas únicamente son constitutivas y su grado de producción va en relación al número de copias del plásmido. (24). Este es el mecanismo de resistencia más frecuente.

- 3) Alteraciones en el lugar de acción: cualquier alteración al nivel de la unión de los betalactámicos con PBP reduce la afinidad del antibiótico por su diana.
- 4) Expresión de bombas de eliminación activa: son bombas de flujo que bombean al antibiótico al exterior.

2.3 BETALACTAMASAS

En 1940 se descubre la primera betalactamasa por Abraham y Chain. En 1968 Sawai y colaboradores describen las penicilasas, cefalosporinasas y de amplio espectro. En 1981 Mitsuhashi e Inoue añaden el término cefuroximasas. Richmond y Sykes en 1973 hacen una revisión de la literatura en relación a esto y presenta un esquema de clasificación para las betalactamasas de las bacterias Gram-negativas en base a su perfil de sustrato. Tres años más tarde Sykes y Matthew amplían el esquema teniendo en cuenta el punto isoeléctrico. En 1980 Ambler las clasifica en función de su estructura molecular (A-D) y finalmente en 1989 Bush propone la modificación del esquema de Richmond y Sykes relacionando el sustrato y los perfiles de inhibición con la estructura molecular lo que constituye la clasificación actual publicada en 1995 por Bush, Jacoby y Madeiros. (4)

La resistencia a los betalactámicos ocurre a través de la producción de betalactamasas, enzimas que inactivan a través de la división de uniones de aminas del anillo beta lactámico. Las betalactamasas se codifican ya sea por genes cromosomales o por genes transferibles localizados en plásmidos y transposones. Además, los genes de las betalactamasas habitualmente residen en los integrones, que de forma frecuente portan determinantes con resistencia múltiple. Estos integrones pueden facilitar la diseminación de multi drogo resistencia entre diferentes especies bacterianas.

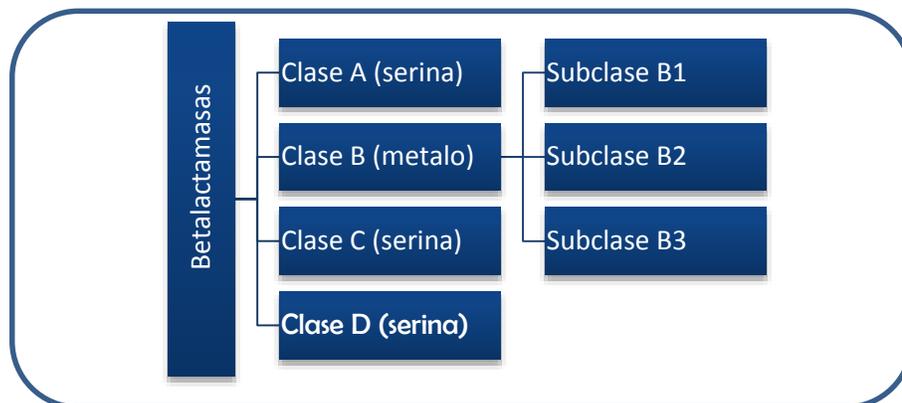
Estas enzimas son el mecanismo de mayor defensa para las bacterias Gram-negativas frente a los betalactámicos. (15) A continuación se ampliarán la clasificación de Ambler y Bush, Jacoby y Madeiros.

Clasificación molecular de Ambler

Las betalactamasas se pueden englobar en dos familias: la primera incluye la serin-betalactamasa (A, C Y D) y la segunda familia incluye la clase B (con sus tres subfamilias) Figura 1. (27)

En base a la estructura primaria hay 4 clases moleculares:

- A. Se encuentran en bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. De origen cromosómico y plasmidico. Su peso molecular es de aproximadamente 25,000 daltons.
- B. Estas enzimas difieren de otras betalactamasas que utilizan zin para unir el residuo histidina o cisteína con el grupo carboxilo de la unión amida de la mayoría de las penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes. (26) se distinguen tres subgrupos diferentes de metalo-betalactamasas (B1-B3). B1 y B3 incluyen enzimas con amplio espectro que actuarían frente a la mayoría de los betalactamicos excepto monobactamicos. B2 son carbapenemasas por lo que presentan poca acción frente a las penicilinasas y cefalosporinasas.
- C. Aquí pertenece la enzima ampC, la cual es una serin-cefalosporinas, proteínas de gran tamaño, 39,000 daltons, que además de la serina contienen en el centro activo DD transpeptidasas-carboxypeptidasas (PBP). Estas enzimas confieren resistencia a las oximinocefalosporinas, 7 alfa metoxicefalosporinas y no se afectan por los inhibidores. (26).
- D. En este grupo pertenecen las serin-oxacilinasas principalmente las activas frente a oxacilina. El peso molecular es de alrededor 30,000 daltons.



Clasificación de Bush, Jacoby y Madeiros (1995)

Las betalactamasas se pueden clasificar en base a su espectro de acción y respuesta a los inhibidores. Se considera como la clasificación más útil y que considera los inhibidores de betalactamasas y los sustratos de los betalactámicos. (25)

1. Grupo 1: se correlaciona con la clase molecular C, aquí pertenecen las cefalosporinasas que no son inhibidas por el ácido clavulánico o sulbactam, pero son inhibidas por el aztreonam y cloxacilina. Su peso molecular es superior a 30,000 daltons y su punto isoeléctrico es básico. La mayoría son de origen cromosómico e hidrolizan principalmente a cefaloridina y cefalotina.

2. Grupo 2: son penicilinasas, cefalosporinasas y betalactamasas de amplio espectro que son sensibles a la acción de los inhibidores de betalactamasa y se correlacionan con las clases A o D de la molecular de Ambler.
3. Grupo 2a: penicilinasas que se encuentran en bacterias Gram-positivas y se correlacionan con la clase A molecular.
4. Grupo 2b: amplio espectro que actúan sobre penicilinas y cefalosporinas y son inhibidas por el ácido clavulánico. Se relacionan con la clase molecular A y son de origen plasmidico. Las enzimas TEM-1, TEM-2 y SHV-1 pertenecen a este grupo.
5. Grupo 2be: en este grupo pertenecen las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), las cuales son capaces de hidrolizar antibióticos Beta lactámicos de espectro extendido y son fuertemente inhibidas por el ácido clavulánico, como ejemplo: TEM-3, CAZ-1, SHV-2, SHV-3 y K1 por su acción sobre el aztreonam. Estructuralmente se derivan del grupo 2b y el término "e" refiere a espectro extendido.
6. Grupo 2br: enzimas mediadas por plásmidos de acción disminuida frente a amino, carboxy y ureido penicilinas. Derivan de TEM-1, TEM-2 y son las denominadas IRT (TEM resistente a inhibidores)
7. Grupo 2c: son carbenicilinasas que tienen mayor acción sobre las penicilinas más que las cefalosporinas, son sensibles al ácido clavulánico, se interrelacionan con la clase A molecular, en este grupo se encuentran las siguientes betalactamasas: PSE-1, PSE-3, PSE-4, CARB-3 y CARB-4 presentes en *Pseudomonas aureginosa*, AER-1 en *Aeromonas hydrophila*, BRO-1 en *P. mirabilis* y *B. catarrhalis*.
8. Grupo 2d: son betalactamasas que hidrolizan cloxacilina y generalmente se inhiben por ácido clavulánico. Son oxacilinasas con punto isoeléctrico que oscila en el rango de 6.1-7.7 y pertenecen al grupo molecular D. A este grupo pertenecen los OXA-1, OXA-4 y OXA-7 muy frecuentes en *E. coli* y PSE-2 en *P. aureginosa*.

Grupo 2de: en este grupo se engloban las oxacilinasas de espectro extendido de clase D con inhibición moderada por el ácido clavulánico.

Grupo 2e: son cefalosporinasas que son inhibidas por bajas concentraciones de ácido clavulánico lo que las diferencia del grupo 1.

Grupo 2f: son serin-carbapenemasas que son inhibidas débilmente por el ácido clavulánico pero no por el EDTA.

9. Grupo 3: son metalo-betalactamasas que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes. Son pobremente inhibidas por los inhibidores clásicos excepto EDTA y p-clormercuribenzoato. Se correlacionan con la clase B molecular.
10. Grupo 4: son penicilinasas que son inhibidas por el ácido clavulánico. No se engloban en clases moleculares.

TABLE 1. Classification schemes for bacterial β -lactamases

Bush-Jacoby-Medeiros group	1989 Bush group (44)	Richmond-Sykes class (253)	Mitsuhashi-Inoue type (194) ^a	Molecular class (2, 121, 132)	Preferred substrates	Inhibited by:		Representative enzymes
						CA ^b	EDTA	
1	1	Ia, Ib, Id	CSase	C	Cephalosporins	-	-	AmpC enzymes from gram-negative bacteria; MIR-1
2a	2a	Not included	PCase V	A	Penicillins	+	-	Penicillinases from gram-positive bacteria
2b	2b	III	PCase I	A	Penicillins, cephalosporins	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2bc	2b'	Not included except K1 in class IV	CXase	A	Penicillins, narrow-spectrum and extended-spectrum cephalosporins, monobactams	+	-	TEM-3 to TEM-26, SHV-2 to SHV-6, <i>Klebsiella oxytoca</i> K1
2br	Not included	Not included	Not included	A	Penicillins	±	-	TEM-30 to TEM-36, TRC-1
2c	2c	II, V	PCase IV	A	Penicillins, carbenicillin	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	2d	V	PCase II, PCase III	D	Penicillins, cloxacillin	±	-	OXA-1 to OXA-11, PSE-2 (OXA-10)
2e	2e	Ic	CXase	A	Cephalosporins	+	-	Inducible cephalosporinases from <i>Proteus vulgaris</i>
2f	Not included	Not included	Not included	A	Penicillins, cephalosporins, carbapenems	+	-	NMC-A from <i>Enterobacter cloacae</i> , Sme-1 from <i>Serratia marcescens</i>
3	3	Not included	Not included	B	Most β -lactams, including carbapenems	-	+	L1 from <i>Xanthomonas maltophilia</i> , CcrA from <i>Bacteroides fragilis</i>
4	4	Not included	Not included	ND ^c	Penicillins	-	?	Penicillinase from <i>Pseudomonas cepacia</i>

^a CSase, cephalosporinase; PCase, penicillinase; CXase, cefuroxime-hydrolyzing β -lactamase.
^b CA, clavulanic acid.
^c ND, not determined.

Bush, K., G.A. Jacoby, et al. A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* June 1995;39 (6): 1211-33

2.4 BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)

El grupo de las betalactamasas de espectro extendido son enzimas capaces de hidrolizar y causar resistencia a varios tipos de nuevos antibióticos betalactámicos, incluyendo las cefalosporinas de espectro extendido (tercera generación como la cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima), monobactamicos como el aztreonam, pero no cefamicinas (como la cefoxitina y el cefotetan) y los carbapenemicos (como imipenem, meropenem y ertapenem. (28) La mayor parte de las BLEE se dividen en 3 grupos: TEM, SHV y CTX-M. (29) *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* continúan siendo los principales microorganismos productores de BLEE a nivel mundial. (30)

La primera betalactamasa codificada por plásmidos en microorganismos Gram-negativos, la conocida como enzima TEM-1, se describió en 1965. Se aisló en un hemocultivo *E. coli* en una paciente llamada Temoniera en Grecia por lo que se designó el nombre a la enzima TEM en honor a esto. Se sabe que esta enzima esta mediada por plásmidos y transposones lo que ha facilitado el paso de la misma a otras especies bacterianas (actualmente en *Enterobacteriaceae*, *P. aureginosa*, *H. influenza* y *N. gonorrhoeae*). (29)

La betalactamasa SHV-1 (variables sulfhidrido), que es parte de este subgrupo de betalactamasas, se encuentra comúnmente codificada por el cromosoma en la mayoría de los aislamientos por *Klebsiella pneumoniae*, pero usualmente de origen plasmidico en *E. coli*. (29)

La primera descripción de una betalactamasa plasmidica con un perfil de resistencia a la cefalosporina de tercera generación pero sensible a cefoxitina se encontró en Alemania (31) en donde se comprobó durante dicho estudio que la producción de la betalactamasa plasmidica fue transferible derivada de SHV-1 y se denominó a esta SHV-2 (29). El incremento del espectro especialmente frente a las oximino-cefalosporinas hizo que se diera nombre a las betalactamasas como de espectro extendido por hidrolizar un rango más amplio de enzimas plasmidicas.

2.4.1 Epidemiología

Las enterobacterias productoras de BLEE habitualmente se aíslan en pacientes hospitalizados, sin embargo también se encuentran en cultivos de origen comunitario. La codificación plasmidica hace que se transfieran fácilmente por conjugación entre diversas especies bacterianas. Así mismo se sabe que estos plásmidos pueden llevar asociada resistencia a otros grupos antimicrobianos (aminoglucósido, tetraciclinas, trimetoprim-sulfametoxazol, fluoroquinolonas) limitando las opciones terapéuticas para dichas bacterias.

El principal reservorio de estas bacterias multirresistentes es el tubo digestivo. Algunos factores de riesgo asociados a colonización fecal de pacientes ingresados en unidades de alto riesgo han llegado a ser de más del 40%. Los factores de riesgo asociados a esto son los siguientes: proceso de gravedad clínico al ingreso, cateterización arterial, nutrición parenteral, sondaje vesical, ventilación mecánica y terapia antimicrobiana previa. Todos estos factores relacionados con el tiempo de estancia en la unidad de alto riesgo y la posibilidad de contacto horizontal a través del personal de salud.

El microorganismo que más frecuentemente se ha asociado a brotes nosocomiales es *Klebsiella pneumoniae*, las primeras epidemias fueron descritas en Francia a finales de los 80. (29) (32) Los brotes nosocomiales asociados a *E. coli* y otras enterobacterias han sido menos frecuentes (39) sin embargo se refieren infecciones producidas por estos

microorganismos con mayor frecuencia tanto nosocomiales como adquiridas en la comunidad. (40)

Es bien conocido la asociación de estos brotes en unidades de cuidado intensivo y terapia intermedia, residencias geriátricas y orfanatos. (34) (35) (36) (37)

Es importante mencionar así mismo la relación existente entre la observación de los brotes epidémicos y un amplio consumo de antibióticos, especialmente cefalosporinas de tercera generación. El consumo elevado de los mismos facilitarían la aparición de clones productores de BLEE, los cuales tienden a diseminarse con facilidad entre las unidades con factores predisponentes para la transmisión cruzada. (38)

El proyecto SENTRY proporciona datos sobre resistencia antibiótica procedente de aislamientos en pacientes hospitalizados desde 1997-1999 en donde se incluyen hospitales de Norteamérica, Latinoamérica, Europa y sudeste asiático. Es de importancia recalcar que América latina presenta un 45% de resistencia bacteriana lo que plantea la posibilidad de presión selectiva ejercida por el abuso de las cefalosporinas de tercera generación. Así mismo el estudio SENTRY demostró la diseminación dentro de los hospitales de determinados aislamientos de bacilos gramnegativos productores de BLEE con un idéntico patrón de campo pulsado, lo que corresponde a una transmisión clonal. También dentro del estudio se pone de manifiesto la diseminación geográfica entre diferentes especies bacterianas de plásmidos portadores de genes responsables de la codificación de las BLEE. (33) (40)

2.4.2 TIPOS DE BETALACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO

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

TEM

La primera TEM-1 reportada fue en 1965 de un aislamiento de *Escherichia coli* de una paciente en Atenas llamada Temoneira (lo que designa su nombre) (41) La expresión de una betalactamasa tipo TEM-1 es el mecanismo más común de resistencia a los betalactámicos entre las bacterias gramnegativas (42)

La TEM-1 es una enzima capaz de hidrolizar la ampicilina en mayor intensidad que la carbapenemina, oxacilina o cefalotina y tiene una actividad mínima en contra de las cefalosporinas de espectro extendido. Se inhibe por el ácido clavulánico. TEM-2 tiene el mismo perfil hidrolítico que TEM-1 pero difiere en tener un promotor nativo más activo y por diferencia en un punto isoeléctrico. (5.6 comparado con 5.4) (43)

La TEM-3 descrita por primera vez en 1988, fue la primera betalactamasa de tipo TEM que mostro un fenotipo propio de una BLEE (44)

Aunque las betalactamasas de tipo TEM han sido encontradas sobre todo en *E. coli* y *K. pneumoniae*, también han sido halladas en otras especies de bacterias gramnegativas con elevada frecuencia. Las betalactamasas de espectro extendido tipo TEM se han descrito en géneros de familia Enterobacteriaceae como *E. aerogenes* (45), *M. morgani*, *P. mirabilis* (46), *P. rettgeri* (47) y *Salmonella* spp. (48).

SHV

Las SHV de tipo BLEE son las enzimas más frecuentemente aisladas y su nombre va en relación al término de variable sulfhidrilo. Generalmente se encuentra en *K. pneumoniae*, siendo responsable de más del 20% de la resistencia a ampicilina mediada por plásmidos en esta especie. (49)

El gen que codifica la SHV-1 comparte un 65% de identidad con el de TEM-1 (50) La mayor parte de las variantes de SHV poseen un fenotipo BLEE que esta generado por la sustitución de un aminoácido de serina en lugar de glicina en la posición 238 de su secuencia. Esta mutación se asocia con un gran incremento de la CMI de cefotaxima y un incremento moderado en la CMI de ceftazidima respecto a las CMI's de SHV-1 para estos mismos antibióticos. (51)

La mayor parte de las BLEE tipo SHV se han encontrado en *K. pneumoniae* (49), *C. koseri* (52), y *E. coli*, así como en otros tipos de bacterias como *P. aureginosa* y *Acinetobacter*. (12) (53)

CTX-M

Recientemente ha surgido una nueva familia de BLEE conocida como CTX-M, adquiriendo este nombre ya que refleja su potente actividad hidrolítica contra la cefotaxima (29) También es conocida su resistencia hacia cefuroxima y cefepime. Los microorganismos productores de BLEEs de tipo CTX-M típicamente tienen CMI para cefotaxima en rango de resistencia (>64 µg/ml) mientras que las CMI para ceftazidima están en rangos aceptables (2-8 µg/ml). (54) (55)

Además de la característica previamente descrita también es importante mencionar que son inhibidas mejor por tazobactam que por sulbactam o ácido clavulánico. Se han descrito en cepas de *Salmonella* entérica serovar, Typhimurium y *E. coli* pero también en otras especies de Enterobacteriaceae. (56).

El residuo serina en la posición 237, presente en todas las CTX-M, tiene un papel importante en la actividad tipo BLEE. Se incluye en este grupo las siguientes betalactamasas: CTX-M1, CTX-M2, CTX-M9, CTX-M10, CTX-M31, enzimas Toho-1 y

Toho 2 las cuales son unas betalactamasas que están relacionadas de forma estructural a las CTX-M, así que al igual que estas tienen una actividad hidrolítica potente contra la cefotaxima y ceftazidima (57) (58).

OXA

Las betalactamasas de tipo OXA reciben este nombre por su capacidad de hidrolizar las oxacilinas. Se incluyen en el grupo 2d y se caracterizan por que confieren resistencia a ampicilina y cefalotina, tienen la capacidad de llevar a cabo hidrolisis tanto de cloxacilina como de oxacilinas mayores al 50% y suelen ser inhibidas por el ácido clavulánico. Las BLEE tipo OXA ocurren de forma casi predominante en *Pseudomonas aeruginosa* (59) pero se han detectado también en algunas otras bacterias Gram negativas.

IRT

Las betalactamasas resistentes a inhibidores de betalactamasas no son propiamente BLEE, pero también derivan de las enzimas clásicas TEM y SHV. A inicios de la década de los noventa se describieron betalactamasas plasmidicas resistentes a la inhibición por ácido clavulánico. Al estudiar la secuencia de los nucleótidos se reveló que estas enzimas eran variantes de las betalactamasas TEM-1 o TEM-2, reportándose hasta 19 distintos tipos de estas.

Se han documentados en aislamientos de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *P. mirabilis*. (60)

Habitualmente estas betalactamasas muestran resistencia clínica al uso de combinaciones de antibióticos betalactámicos con inhibidores de las betalactamasas como amoxicilina-ácido clavulánico, ticarcilina-ácido clavulánico y ampicilina-sulbactam, pero pueden presentar cierta capacidad de inhibición por tazobactam. (61)

OTRAS BLEES

Recientemente se han descubierto una variedad de betalactamasas que se median por plásmidos o asociadas a integrones de enzimas clase A. (62) (63) Estas enzimas no han podido clasificarse dentro de ninguna de las familias típicas. La PER-1 se describió por primera vez en *P. aeruginosa* aislándose en un paciente en Turquía. (64). Representa el 60% de resistencias a ceftazidima en *A. baumannii*. Este tipo de betalactamasa hidroliza las penicilinas y las cefalosporinas de forma eficiente y suelen ser susceptibles a la inhibición con ácido clavulánico. (65) La enzima PER-2 con un parecido genético a la enzima PER-1 de un 86% se describió por primera vez en Argentina en un cultivo de *S. typhimurium*. Estas enzimas comparten únicamente homología con las TEM y las SHV de aproximadamente 25-27%. (66).

Otra betalactamasa de reciente descubrimiento es la VEB-1 la cual muestra una homología genética de aproximadamente 38% con PER-1 y PER-2. Se descubrió en un paciente Vietnamita hospitalizado en Francia. (67). Confiere alta resistencia a la ceftazidima, cefotaxima y aztreonam lo que puede ser revertido por el ácido clavulánico. El gen que codifica esta enzima suele ser mediado por plásmidos; estos plásmidos confieren resistencia a otros antibióticos no betalactámicos.

Otras descritas son la CME-1 descrita en *Chryseobacterium meningosepticum* (68) y TLA-1 identificándose en *E. coli* en un hospital de México (69). Todas estas enzimas confieren resistencia a las oximiinocefalosporinas principalmente ceftazidima y aztreonam.

En Brasil se aisló en *S. marcescens* una BLEE denominada como BES-1 que presenta una CMI de aztreonam de (512 µg/ml) y de cefotaxima (64 µg/ml) mayores que la ceftazidima (8µg/ml). Esta betalactamasa no comparte características con ninguna otra BLEE, tiene resistencia a la inhibición con tazobactam pero no al ácido clavulánico ni sulbactam. (62)

2.4.3. FACTORES DE RIESGO PARA COLONIZACION E INFECCION CON BLEE

En la actualidad han sido creados múltiples estudios de tipo caso-control en los que se ha intentado determinar los factores de riesgo para colonización e infección con organismos productores de BLEE, sin embargo ha habido conflictos de interés pues difieren en el tipo de población estudiada, la selección de casos, controles y el tipo de muestra (4) (9) (70) pero a pesar de esto se han establecido algunos factores generalizados que toman importancia.

Habitualmente suelen ser pacientes con enfermedades graves y con hospitalizaciones prolongadas en quienes generalmente se han utilizado múltiples métodos invasivos por tiempo prolongado: catéteres urinarios, tubos endotraqueales, líneas venosas centrales. Habitualmente el tiempo de hospitalización previo a la incubación de un microorganismo productor de BLEE suele ser entre un promedio de 11 y 67 días. (9) (29) (70)

En algunos estudios individuales se ha visto relación así mismo con el uso de sonda nasogástrica (9), sonda de gastrostomía o yeyunostomía (71), líneas arteriales (72), nutrición parenteral total (73), cirugía reciente, hemodiálisis, úlceras por decúbito (71) y estado nutricional pobre (74).

Otro factor de riesgo de suma importancia es el uso indiscriminado de antibióticos principalmente cefalosporinas de tercera generación. (9) (75) (76) También se ha asociado al uso de otras clases de antibióticos tales como quinolonas, trimetoprim con sulfametoxazol, aminoglucosidos y metronidazol (4) (71)

Los asilos y casas de cuidados como orfanatos pueden servir como portal de entrada de microorganismos productores de BLEE hacia el hospital (77). Así mismo en aquellos pacientes en quienes la colonización o la infección sucedió intrahospitalaria podrán transmitir dicho microorganismo a la casa de cuidado o asilo. (78) Se ha asociado también al uso de antibioticoterapia indiscriminada en dichos centros, lo que es frecuente. En un estudio reciente se demostró que un 38% de los residentes del asilo estudiado habían consumido antibióticos sistémicos al menos un mes previo. (79) Toman importancia en este contexto los cuidadores de la salud pues se ha demostrado la falta de lavado de manos en quienes manejan a los residentes de estos centros de cuidado, facilitando así la transmisión de dichos microorganismos a través de las secreciones como orina, heces y las secreciones de las úlceras por decúbito. (79) (80)

En los últimos 3 años se han reportado múltiples casos de infecciones o colonizaciones por *E. coli* BLEE adquiridas en la comunidad. (81) Estos reportes han sido en España, Israel, Reino Unido, Canadá y Tanzania. Habitualmente se han identificado *E. coli* productoras de CTX-M, la mayor parte de los microorganismos aislados han sido resistentes a los agentes de primera línea más utilizados: trimetoprim con sulfametoxazol, ciprofloxacino, gentamicina y ceftriaxona. En España se llevó a cabo un estudio de casos y controles en donde se examinaron los factores de riesgo para desarrollar este tipo de infecciones y colonización determinando que son factores de riesgo independiente los siguientes rubros: Diabetes mellitus, uso previo de quinolona, infecciones de vías urinarias recurrentes, admisiones hospitalarias previas y edad avanzada. (82)

2.4.4 RESISTENCIA CON OTROS ANTIBIOTICOS

Los organismos con betalactamasas de espectro extendido además de su codificación por plásmidos, forman parte de transposones o integrones, situación que permite su asociación con otros determinantes genéticos de resistencia transferible. (4) (83) Suele haber una limitación terapéutica para el manejo de microorganismo productores de BLEE tales como *E. coli* y *K. pneumoniae* ya que frecuentemente son resistentes a múltiples agentes antibióticos. Hasta el momento los agentes más confiables y a los que suelen ser más susceptibles son los carbapenémicos, sin embargo, su uso empírico se ha asociado a brotes de infecciones por organismos BLEE y se han asociado con emergencia de resistencia a imipenem en patógenos nosocomiales. (84) (85)) En este contexto toma importancia el uso de quinolonas, pues se ha demostrado como una opción terapéutica efectiva al tener un microorganismo susceptible (86)

En algunos estudios se han observado asociación entre la presencia de BLEE y la resistencia a quinolonas en aislamientos de *K. pneumoniae* a pesar de que la codificación de la resistencia se ubica a nivel de los plásmidos en las BLEE y en el cromosoma

tratándose de las quinolonas. (87) Algunos otros estudios han reportado resistencia a quinolonas en un 40-45% de los microorganismos aislados. (71)

Toma importancia entonces la identificación de factores de riesgo asociados a resistencia contra fluoroquinolonas en infecciones por microorganismos productores de BLEE de forma que podamos identificar aquellos modificables para poder disminuir la resistencia y conservar el rol que tienen esta familia de antibióticos a nivel de estas infecciones. De forma secundaria traerá una reducción a la dependencia de carbapenémicos y de esta forma disminuir la resistencia de los mismos en patógenos intrahospitalarios.

En algunos estudios se identificaron como factores de riesgo el uso previo de fluoroquinolona como agente de primera línea, 30 días previos. También se encontró asociación con el uso de aminoglicosidos y cotrimoxazol ya que ambos causan alteración en la permeabilidad de la membrana antimicrobiana resultando con una resistencia a quinolonas concurrente. (88) En este mismo estudio más del 50% no tuvieron asociación al uso de estos antibióticos por lo que se asumió la adquisición de dicho organismo a través de la transferencia horizontal entre personas. Habitualmente son pacientes que han permanecido en estancias de cuidado como asilos pues se ha corroborado la participación de la diseminación a través de los cuidadores de salud por la falta de higiene y aseo. (89)

2.4.5 TRATAMIENTO PARA LAS INFECCIONES POR BACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE

Las bacterias productoras de beta lactamasas de espectro extendido habitualmente presentan resistencia a las penicilinas incluyendo las amino, carboxilo y ureidopenicilinas, así como a las cefalosporinas incluyendo tercera y cuarta generación con excepción de las cefamicinas. (90) De la gama de la familia de los betalactámicos únicamente mantienen actividad frente a estas bacterias las cefamicinas como la cefoxitina y las combinaciones de betalactámicos más inhibidores de betalactamasas y carbapenemas.

De las cefamicinas ha habido algunos reportes de su uso así como también del uso de los betalactámicos agregando un inhibidor de betalactamasa sin embargo las guías no las recomiendan como primera línea. (90) (91)

En cuanto al uso de quinolonas estas se recomiendan como terapia de primera línea en infecciones del tracto urinario complicado secundario a infección con organismos productores de BLEE siempre y cuando muestren susceptibilidad in vitro. A pesar de esto la creciente resistencia limita el rol de estos antibióticos en estas infecciones en un futuro. Hay dos estudios en donde se observó superioridad de los carbapenémicos por sobre las quinolonas, mientras que en un estudio se encontró una equivalencia en la

efectividad. Estas diferencias se han relacionado con probable dosis sub óptima de la quinolona en la presencia de cultivos con CMI elevadas. (10)

Hay dos estudios que sugieren la sinergia con ciprofloxacino añadido a un antibiótico beta lactámico in vitro contra cepas productoras de BLEE. En estos estudios se utilizó ciprofloxacino junto con imipenem y la combinación de cefotaxima y sulbactam generando sinergismo importante. (92)

Finalmente, con referencia a los carbapenémicos la literatura los menciona como el antibiótico de elección para infecciones severas por microorganismos productores de BLEE ya que han sido los antibióticos con mayor susceptibilidad in vitro de forma uniforme así como mayor experiencia clínica. (91) La experiencia publicada es mayor con imipenem sin embargo las CMI son menores para meropenem. No se recomienda de inicio Ertapenem pues no hay publicaciones de importancia o experiencia en referencia a esto. Sin embargo hay también conjeturas sobre iniciarla como terapia pues de forma secundaria podríamos evitar la resistencia para *Pseudomonas aeruginosa* pues este antimicrobiano no tiene efecto sobre dicha bacteria. Es importante recalcar que ya se ha documentado en la literatura la resistencia de los carbapenémicos para algunos patógenos nosocomiales como *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, esto asociado al abuso empírico de este antimicrobiano ante infecciones por organismos BLEE. (93) Así como se ha asociado con la aparición de casos de infecciones en pacientes ingresados en unidades de críticos, producidas por *K. pneumoniae* productores de BLEE y de betalactamasas plasmídicas de clase C las cuales son resistentes a los mismos. (94)

Martínez y Martínez et al. han demostrado aislamientos de *K. pneumoniae* portadores de BLEE o de enzimas tipo AmpC son mediadas por plásmidos, lo que contribuye a disminuir la sensibilidad a carbanemas. (95)

A continuación se esquematizara los tratamientos de elección dependiendo del proceso infeccioso así como el tratamiento de segunda línea.

TIPO DE INFECCION	TRATAMIENTO DE ELECCION	TRATAMIENTO DE SEGUNDA LINEA
<i>Infección del tracto urinario</i>	Quinolona ^a	Amoxicilina/clavulanato
<i>Bacteremia</i>	Carbapenémico	Quinolona ^a
<i>Neumonía nosocomial</i>	Carbapenémico	Quinolona ^a
<i>Infección intra abdominal</i>	Carbapenémico	Quinolona ^a (mas metronidazol)
<i>Meningitis</i>	Meropenem	Polimixina B intratecal

^aSi el organismo es susceptible a quinolona

Paterson DL, Bonomo RA. Extended spectrum B- Lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 18:657-86

2.4.6 METODOS FENOTIPICOS DE DETECCION DE BLEES

Es de suma importancia detectar de forma temprana y precisa los microorganismos productores de BLEE ya que se debe determinar si hay fracasos terapéuticos cuando se han usado cefalosporinas para el tratamiento de infecciones graves producidas por estos, incluso aunque aparentemente sea sensible a estas in vitro. Así mismo es bien sabido que la presencia de estos organismos a nivel hospitalario traduce un problema de salud muy serio ya que de forma secundaria refleja el mal empleo de antibióticos por lo que es de suma importancia una rápida intervención ante algún brote de importancia.

Las BLEE son mecanismos de resistencia difíciles de detectar por los laboratorios a nivel intrahospitalario ya que hay diferencias en los perfiles de sustrato de las diferentes BLEE y al efecto inoculo con las pruebas standard de sensibilidad lo que puede traducir falsa sensibilidad a las cefalosporinas (96)

El instituto de estándares laboratoriales y clínicos (CLSI) estableció normas para la detección de enzimas tipo BLEE en *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, basados en unos puntos de corte que indican la disminución de sensibilidad a los fármacos habitualmente hidrolizados por estas enzimas estableciendo un método de confirmación basado en el hecho de la inhibición de estas enzimas por ácido clavulánico. Las técnicas fenotípicas de detección emplean un inhibidor de betalactamasas, por lo general es ácido clavulánico el cual inhibe a la BLEE, reduciendo el nivel de resistencia a la cefalosporina. (29)

Métodos de difusión con disco

En este tipo de procedimiento es sencillo, flexible y de bajo costo. Se colocan discos de papel de filtro los cuales contienen cantidad conocida de antibiótico en la superficie de una placa de medio de cultivo previamente inoculada con el microorganismo problema. Son discos de aproximadamente 6mm, se pueden colocar la cantidad que se desee ser analizada. Al entrar en contacto con el medio de cultivo absorbe agua de este e inmediatamente el antibiótico comienza a difundir de forma radial de forma que genera un gradiente de concentración la cual es inversamente proporcional a la distancia hasta el borde del disco. En las zonas donde hay concentración suficiente el microorganismo no podrá crecer, tras un periodo de incubación aparecerá un halo de inhibición de crecimiento alrededor de los discos. El diámetro del halo de inhibición indica el grado de sensibilidad del microorganismo al correspondiente antibiótico. El inconveniente de este método es que no establece la CMI de forma directa. La CLSI estableció punto de corte en milímetros de halos de inhibición, que establece las categorías clínicas de sensible, intermedio y resistente. (97)

Suele ser un método confiable para detectar BLEE, se sugiere que se aumenta la sensibilidad de la prueba al reducir la distancia entre discos a 20 mm. (98) Se ha sugerido

también el uso de cefpodoxima en la técnica de doble difusión con disco. La NCCLS recomienda el método de difusión con discos en placas de Mueller-Hinton inoculadas con aislados al 0.5 de Mc Farland, de cefpodoxima (10µg), cefpodoxima mas ácido clavulanico (10/1 µg), ceftazidima (30µg), ceftazidima mas ácido clavulanico (30/10µg), cefotaxima (30µg) y cefotaxima mas ácido clavulanico (30/10µg). Se deberá sospechar de BLEE cuando se encuentran halos de inhibición para discos de cefpodoxima, ceftazidima o cefotaxima iguales o inferiores a 17, 22 y 27mm respectivamente. La confirmación se hace con la prueba de sinergia necesitando al menos un incremento de 5mm o más del halo de inhibición adicionando los discos con inhibidor de betalactamasa. (97)

Prueba de Épsilon

Este es un método que utiliza tiras de plástico no poroso de 5 cm de largo por 5 mm de ancho las cuales tienen un gradiente de concentraciones de antibiótico. Al colocar la tira a una placa ya inoculada e incubada, la intersección de la elipse de crecimiento del microorganismo con la tira permite una determinación directa de la CMI. Tiene una sensibilidad para confirmar la presencia de BLEE entre 87-100% y una especificidad del 95-100%. (99)

Las tiras diseñadas para organismos productores de BLEE se dividen en dos gradientes: la primera mitad tiene una concentración decreciente de ceftazidima (32µg/ml a 0.5 µ/ml), la segunda mitad tiene ceftazidima en concentraciones decrecientes (4 µg/ml a 0.064 µg/ml) más ácido clavulanico en concentración fija. Es considerada como positiva cuando la sinergia cuando se observa una disminución de tres o más diluciones de la CMI de ceftazidima al añadir ácido clavulanico. (99)

Métodos automatizados

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

Los valores de CMI reales se encontraran en algún valor situado entre la CMI experimentalmente obtenida y la concentración inmediatamente inferior. (100)

En la actualidad se disponen de varios métodos semiautomáticos como Vtek, Microscan, BD- Phoenix System. (101)

Métodos bioquímicos y moleculares para la caracterización de BLEE

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

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

De los métodos moleculares se destacan las sondas de DNA, las técnicas de amplificación y la secuenciación. (100)

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los antibióticos betalactámicos son medicamentos ampliamente utilizados en nuestro medio hospitalario, esto en base a su amplia cobertura para diferentes tipos de microorganismos y procesos infecciosos tanto adquiridos en la comunidad como nosocomiales. Su adecuado uso es de suma importancia pues confiere un impacto en la resistencia bacteriana intrahospitalaria.

Su mecanismo de resistencia en las enterobacterias implica la formación de betalactamasas las cuales han adquirido en las últimas décadas mayores mecanismos de adaptación y resistencia a los antimicrobianos de más amplia cobertura. Actualmente la literatura recomienda el uso con carbapenémicos como manejo de primera línea empírico al estar frente a una enterobacteria BLEE, sin embargo su elevado uso se ha asociado con resistencia en otros patógenos nosocomiales. (79) Por lo mismo se ha enfocado el estudio de la susceptibilidad por las fluoroquinolonas como terapia alterna y se ha observado buena respuesta siempre y cuando se compruebe la sensibilidad antimicrobiana a dicho antibiotico. (77) En múltiples estudios internacionales se ha observado que la resistencia a esta familia de antibióticos va en aumento y esto se ha asociado al uso previo e indiscriminado de quinolonas y aminoglucosidos.

Ante esta situación es importante determinar el patrón de resistencia a fluoroquinolonas en enterobacterias con betalactamasas de espectro extendido en nuestro Hospital Central Norte de Pemex así como su correlación con el uso previo de quinolonas y aminoglucosidos, con la intención de mejorar el manejo de infecciones asociadas a este patógeno, ofrecer alternativas terapéuticas y de forma secundaria mejorar la resistencia bacteriana.

3.1 Pregunta de investigación

¿Existe resistencia a fluoroquinolonas en enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en los hemocultivos, urocultivos y cultivos de expectoración en el hospital central norte de Pemex en el año 2014?

4. JUSTIFICACION

- Científica: con este estudio se lograra identificar la resistencia a quinolonas en enterobacterias BLEE mediante un estudio confiable metodológicamente, todo esto con la intención de identificar alternativas terapéuticas para las infecciones asociadas a estos patógenos.
- Económica: esta tesis tiene un enfoque en la recomendación del uso adecuado de antimicrobianos evitando el uso indiscriminado de los mismos, de esta forma teniendo impacto económico.
- Académica: se lleva a cabo esta tesis con el objetivo de obtener el grado de especialista en medicina interna

5. HIPOTESIS

Existe resistencia a fluoroquinolonas en enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en los hemocultivos, urocultivos y cultivos de expectoración en el hospital central norte de Pemex en el año 2014

6. OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECIFICOS

Objetivo principal

Determinar el patrón de resistencia a quinolonas en enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido documentadas en hemocultivo, urocultivo y cultivo de expectoración en el Hospital Central Norte de Petróleos Mexicanos durante el año 2014

Objetivos específicos

- Describir la distribución de microorganismos por origen de cultivo y la resistencia de los dos microorganismos con mayor frecuencia.
- Determinar la correlación con el uso previo de quinolonas y el desarrollo de enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido resistente a quinolona en hemocultivos, urocultivos y cultivos de expectoración en Hospital Central Norte de Pemex durante el 2014.
- Determinar la correlación con el uso previo de aminoglucosidos y el desarrollo de enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido resistente a quinolona en hemocultivos, urocultivos y cultivos de expectoración en Hospital Central Norte de Pemex durante el 2014.

7. MATERIAL Y METODOS

7.1 DISEÑO.

Este es un estudio observacional descriptivo transversal retrospectivo

7.2 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE	CLASIFICACION	DEFINICION OPERACIONAL	DEFINICION TEORICA	INDICADORES
Origen del cultivo	Cualitativa nominal	Origen del crecimiento bacteriano en las siguientes secreciones: sangre, orina o expectoración bronquial.	Comienzo, inicio o surgimiento de la bacteria en un medio sólido o líquido.	a. Urocultivo b. Hemocultivo c. Cultivo de expectoración

Microorganismos aislados en hemocultivo	Cualitativa nominal	Crecimiento de enterobacteria con BLEE en cultivo de sangre.	Crecimiento de ser vivo o sistema biológico únicamente visible a través del microscopio en sangre	<ul style="list-style-type: none"> a. Escherichia Coli b. Citrobacter Amalonaticus c. Klebsiella Pnneumoniae d. Morganella Morganii e. Citrobacter Freundii f. Serratia Marcescens g. Proteus Vulgaris
Microorganismos aislados en urocultivo	Cualitativa nominal	Crecimiento de enterobacteria con BLEE en cultivo de orina	Crecimiento de ser vivo o sistema biológico únicamente visible a través del microscopio en orina	<ul style="list-style-type: none"> a. Escherichia Coli b. Klebsiella Pneumoniae
Microorganismos aislados en cultivo de expectoracion	Cualitativa nominal	Crecimiento de enterobacteria con BLEE en cultivo de secrecion de expectoracion bronquial	Crecimiento de ser vivo o sistema biológico únicamente visible a través del microscopio en secrecion bronquial	<ul style="list-style-type: none"> a. Escherichia Coli b. Serratia Marcescens c. Klebsiella Pneumoniae d. Klebsiella Oxytoca e. Enterobacter Cloacae
Uso previo de quinolonas	Cualitativa nominal	Prescripción de alguna quinolona en los 3 meses previos al reporte del cultivo con enterobacteria BLEE. (acido nalidixico, ciprofloxacino, ofloxacino, moxifloxacino y levofloxacino)	Acción y efecto de usar previamente algún antimicrobiano de la familia quinolona	<ul style="list-style-type: none"> a. Si b. No
Uso previo de aminogluosidos	Cualitativa nominal	Prescripción de algún aminogluosido en los 3 meses previos al reporte del cultivo con enterobacteria BLEE (gentamicina, amikacina)	Acción y efecto de usar previamente algún antimicrobiano de la familia aminogluosido.	<ul style="list-style-type: none"> a. Si b. No
Resistencia a quinolonas en enterobacterias con betalactamasa de	Cualitativa nominal	Porcentaje de resistencia a quinolonas en el reporte de	Resistencia de un microorganismo a un medicamento antimicrobiano al	<ul style="list-style-type: none"> a. Si b. No

espectro extendido en urocultivos		enterobacterias BLEE de urocultivos	que originalmente era vulnerable	
Resistencia a quinolonas en enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido en hemocultivo	Cualitativa nominal	Porcentaje de resistencia a quinolonas en el reporte de enterobacterias BLEE de hemocultivos	Resistencia de un microorganismo a un medicamento antimicrobiano al que originalmente era vulnerable	a. Si b. No
Resistencia a quinolonas en enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido en cultivos de expectoración	Cualitativa nominal	Porcentaje de resistencia a quinolonas en el reporte de enterobacterias BLEE de cultivos de expectoración	Resistencia de un microorganismo a un medicamento antimicrobiano al que originalmente era vulnerable	a. Si b. No

7.3 UNIVERSO DE TRABAJO Y MUESTRA

El universo de este estudio se conformó por las enterobacterias reportadas en hemocultivos, urocultivos y cultivos de expectoración en el año 2014 en el Hospital Central Norte de Petróleos Mexicanos.

Se manejó una muestra no probabilística y por conveniencia la cual se constituyó por el total de las enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido reportadas en hemocultivos, urocultivo y cultivos de expectoración en el año 2014 en el Hospital Central Norte de Pemex, siendo un total de 423 cultivos.

7.4 INSTRUMENTO DE INVESTIGACION

Se utilizó una cedula como herramienta de recolección de datos, siendo elegido el programa Excel de Microsoft office para el apoyo de elaboración de la tesis.(Anexo 1) Se recabo nombre, microorganismos aislados, presencia de betalactamasa de espectro extendido, resistencia a quinolonas, uso previo de aminoglucosidos y uso previo de quinolonas.

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

7.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Los criterios de inclusión son los cultivos positivos con enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en urocultivos, hemocultivos y cultivos de expectoración en el año 2014 en Hospital Central Norte de Pemex.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

- Cultivos positivos con enterobacterias sin betalactamasa de espectro extendido
- Cultivos negativos
- Cultivos contaminados
- Cultivos positivos con enterobacterias betalactamasa de espectro extendido pero con reporte incompleto de antibiograma

7.6 DESARROLLO DEL PROYECTO

Las muestras que se procesaron en laboratorio fueron de las siguientes secreciones: sangre, orina y expectoración bronquial. Los medios de cultivo correspondientes se enlistaran a continuación:

Expectoración

- Agar sangre
- Agar sabourad
- Agar MacConkey
- Agar Chocolate
- Agar Candida

Urocultivos

- Agar sangre
- Agar MacConkey

Hemocultivos

- Toma de sangre periférica o central depositando en frasco de tipo BD Bactec.

Posteriormente al inocular las secreciones e incubarlas se procede a la lectura a través de los paneles de MicroScan ® los cuales fueron diseñados para la determinación de la sensibilidad de antimicrobianos y/o la identificación en el nivel de especie de bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios.

Estas pruebas de sensibilidad antimicrobiana son miniaturizaciones de la prueba de sensibilidad por dilución en caldo Mueller-Hinton que se han deshidratado, este se suplementa con calcio y magnesio. 21,31

Después de la inoculación y rehidratación con una suspensión estandarizada del microorganismo y la incubación a 35° durante un periodo mínimo de 16 horas, la concentración inhibitoria mínima (CIM) para el microorganismo se determina por la

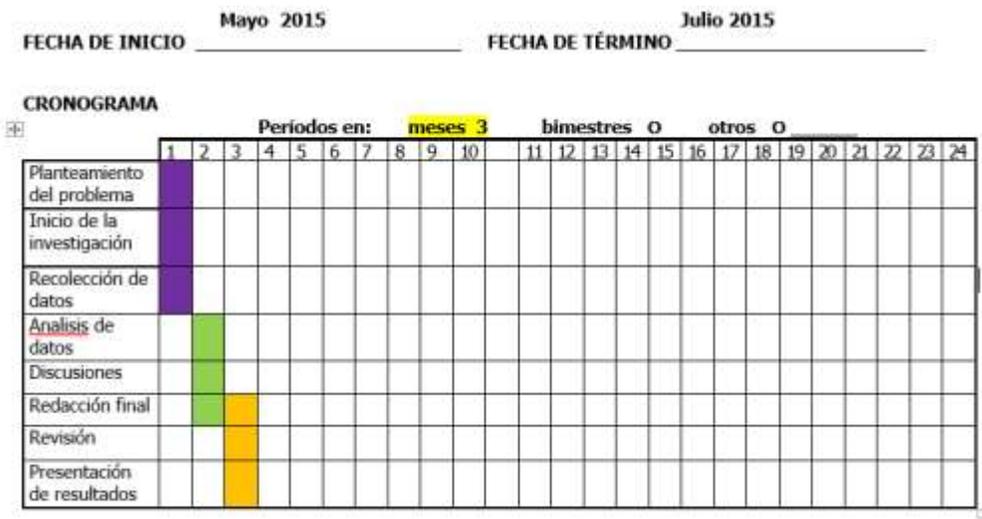
observación de la concentración antimicrobiana más baja que presente inhibición del crecimiento.

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

7.7 LIMITE DE TIEMPO Y ESPACIO

La preparación de la tesis se llevó a cabo en Hospital Central Norte de Pemex iniciando el día 1ro de Mayo del 2015 y culminando el día 20 de Julio del 2015.

7.7 CRONOGRAMA



8. IMPLICACIONES ETICAS

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

En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes.

Cada participante potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento, estipulaciones post estudio y todo otro aspecto pertinente de la investigación. El participante potencial debe ser informado del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada participante potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información.

Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestiguado formalmente.

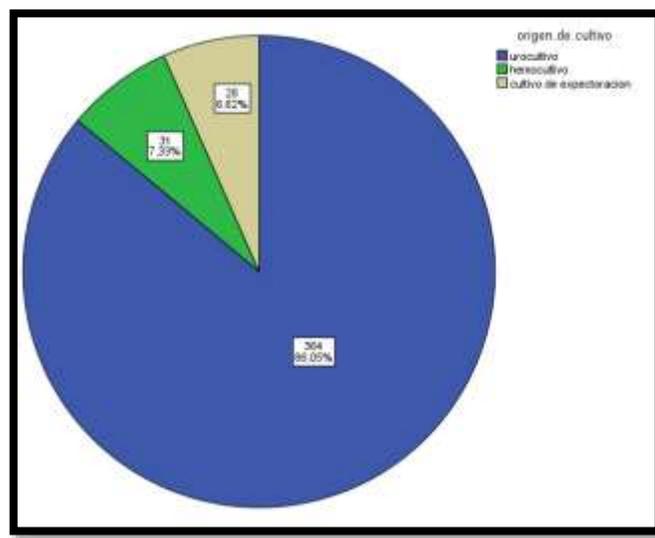
9. TABLAS, GRAFICAS Y RESULTADOS

La muestra de este estudio fue de un total de 423 cultivos provenientes de orina, sangre y expectoración con reporte de enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido cumpliendo los criterios de inclusión y exclusión. De los 423 cultivos 364 fueron urocultivos (86.05%), 31 hemocultivos (7.33%) y 28 cultivos de expectoración (6.62%).

Enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido

Origen del cultivo	Numero de cultivos	Porcentaje
Urocultivo	364	86.05%
Hemocultivo	31	7.33%
Cultivo de expectoración	28	6.62%
TOTAL	423	100%

Tabla 1.
Fuente: cédula (anexo 1)



Fuente: Tabla 1

PATRON DE RESISTENCIA A FLUOROQUINOLONAS EN ENTEROBACTERIAS BLEE

Se procedió a determinar del total de los reportes de cultivos con enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido con resistencia a quinolonas en base a origen de cultivo de la siguiente manera: resistencia a nivel de cultivos de expectoración del 46.42%, en urocultivos del 89.28% y en hemocultivos del 90.32%.



Fuente: cédula (Anexo 1)

FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS POR DISTRIBUCIÓN DE CULTIVOS

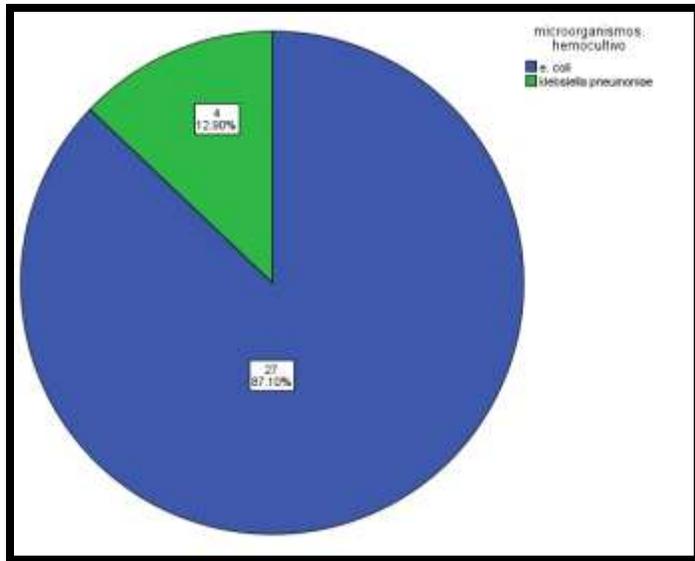
De los 31 hemocultivos con presencia de enterobacteria BLEE, 27 (87.10%) reportaron la presencia de *Escherichia coli* mientras que 4 (12.90%) reportaron *Klebsiella pneumoniae*.

Frecuencia de microorganismos en hemocultivo

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje valido	Porcentaje acumulativo
E. coli	27	6.4	87.1	87.1
Klebsiella pneumoniae	4	.9	12.9	100.0
Total	31	7.3	100.0	
Total	392	92.7		
Total	423	100.0		

Tabla 2.

Fuente: cédula (Anexo 1)



Fuente: tabla 2

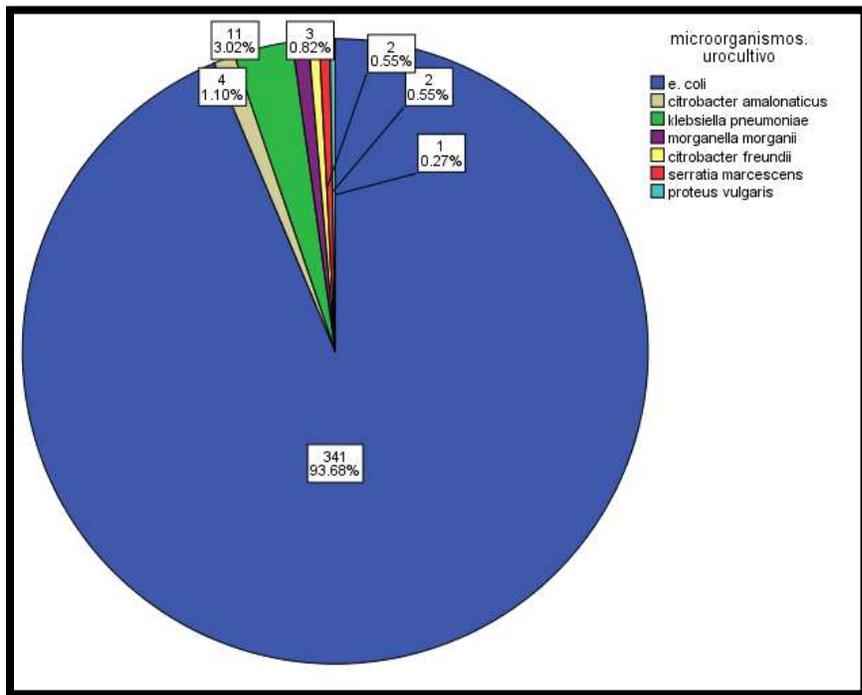
De los 364 urocultivos con reporte de enterobacterias BLEE 341(93.68%) reportaron a Escherichia coli como el microorganismo con mayor frecuencia, siguiendo Klebsiella pneumoniae con 11 cultivos (3.02%). Se documentaron así mismo 4 (1.10%) con citrobacter amalonaticus, 3 (0.82%) de Morganella morganii, 2 (0.55%) de citrobacter freundii y serratia marcescens y por ultimo uno con proteus vulgaris (0.27%).

Frecuencia de microorganismos en urocultivo

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje valido	Porcentaje acumulativo
E. coli	341	80.6	93.7	93.7
Citrobacter amalonaticus	4	.9	1.1	94.8
Klebsiella pneumoniae	11	2.6	3.0	97.8
Morganella morganii	3	.7	.8	98.6
Citrobacter freundii	2	.5	.5	99.2
Serratia marcescens	2	.5	.5	99.7
Proteus vulgaris	1	.2	.3	100.0
Total	364	86.1	100.0	
	59	13.9		
Total	423	100.0		

Tabla 3.

Fuente: cédula (Anexo 1)



Fuente: tabla 3

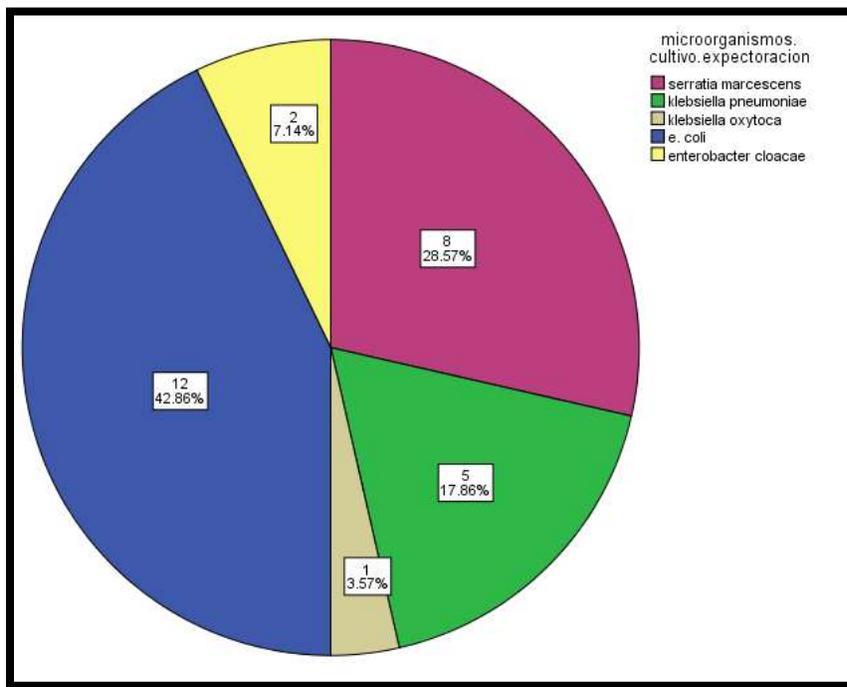
De los cultivos de expectoración con reporte de enterobacterias BLEE se obtuvieron 12 (42.86%) con crecimiento para Escherichia coli, 8 (20.57%) con Serratia Marcescens, 5 (17.86%) con Klebsiella pneumoniae, 2 (7.14%) con Enterobacter cloacae y 1 (3.57%) con Klebsiella oxytoca.

Frecuencia de microorganismos en cultivo de expectoración

	Frecuencia	Porcentaje e	Porcentaje valido	Porcentaje acumulativo
Serratia marcescens	8	1.9	28.6	28.6
Klebsiella pneumoniae	5	1.2	17.9	46.4
Klebsiella oxytoca	1	.2	3.6	50.0
E. coli	12	2.8	42.9	92.9
Enterobacter cloacae	2	.5	7.1	100.0
Total	28	6.6	100.0	
	395	93.4		
Total	423	100.0		

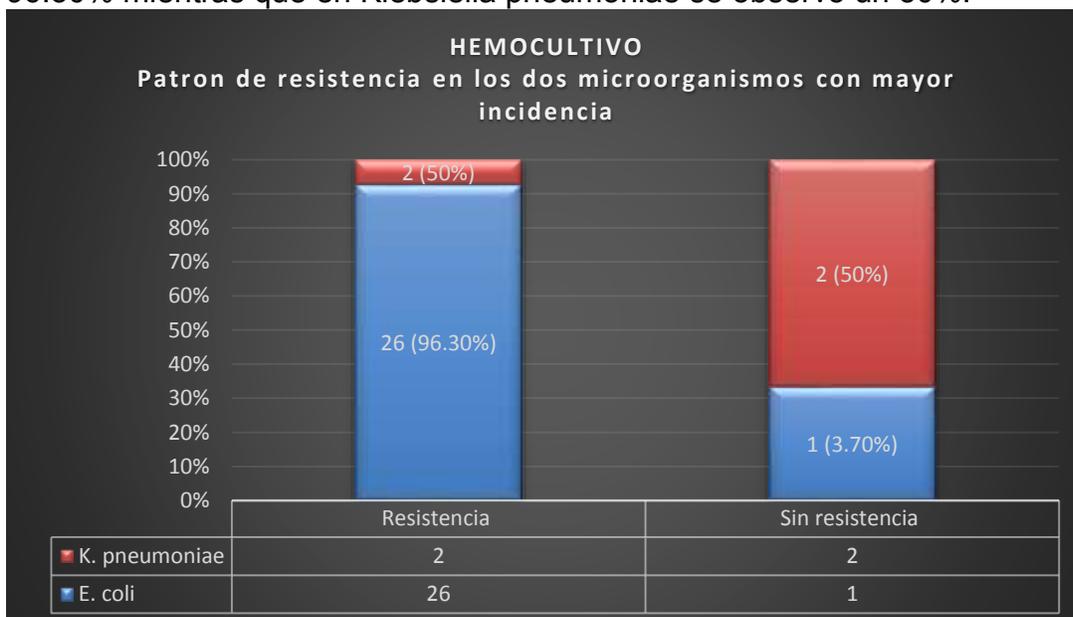
Tabla 4.

Fuente: cédula (Anexo 1)



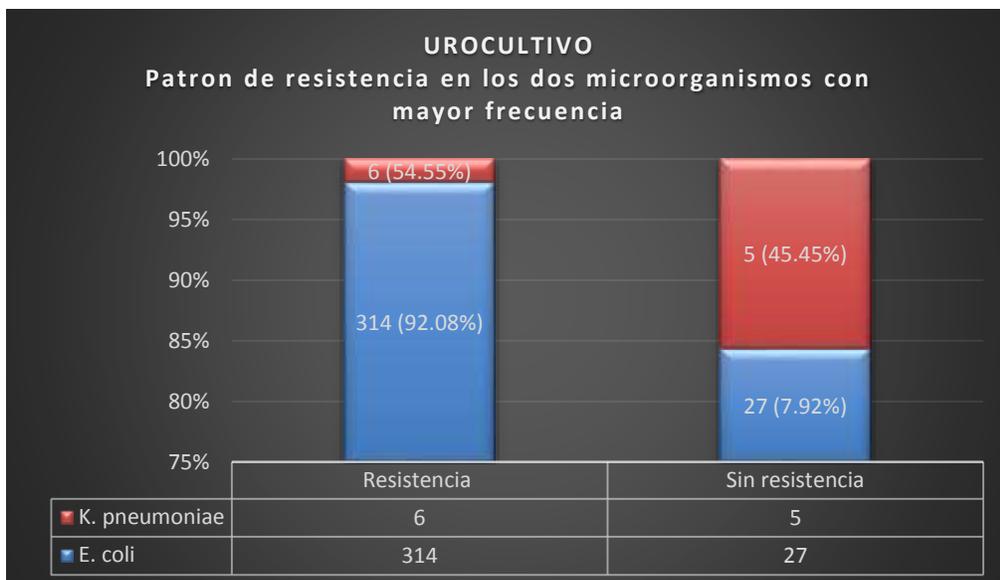
Fuente. Tabla 4

Así mismo se determinó el patrón de resistencia en los dos microorganismos con mayor frecuencia por origen de cultivo. En los hemocultivos únicamente se reportaron crecimientos de Escherichia coli en un 87.10% y Klebsiella pneumoniae en un 12.90%. De los cuales se observó mayor resistencia en las cepas de Escherichia coli con un 96.30% mientras que en Klebsiella pneumoniae se observó un 50%.



Fuente: cédula (Anexo 1)

De los 364 urocultivos reportados, *Escherichia coli* fue el microorganismo con mayor frecuencia en un 93.68% seguido de *Klebsiella pneumoniae* en un 3.02% encontrando mayor resistencia a quinolonas en las cepas con *Escherichia coli* con un porcentaje del 92.08%. Mientras que en *K. pneumoniae* fue de 45.45%.



Fuente: cédula (Anexo 1)

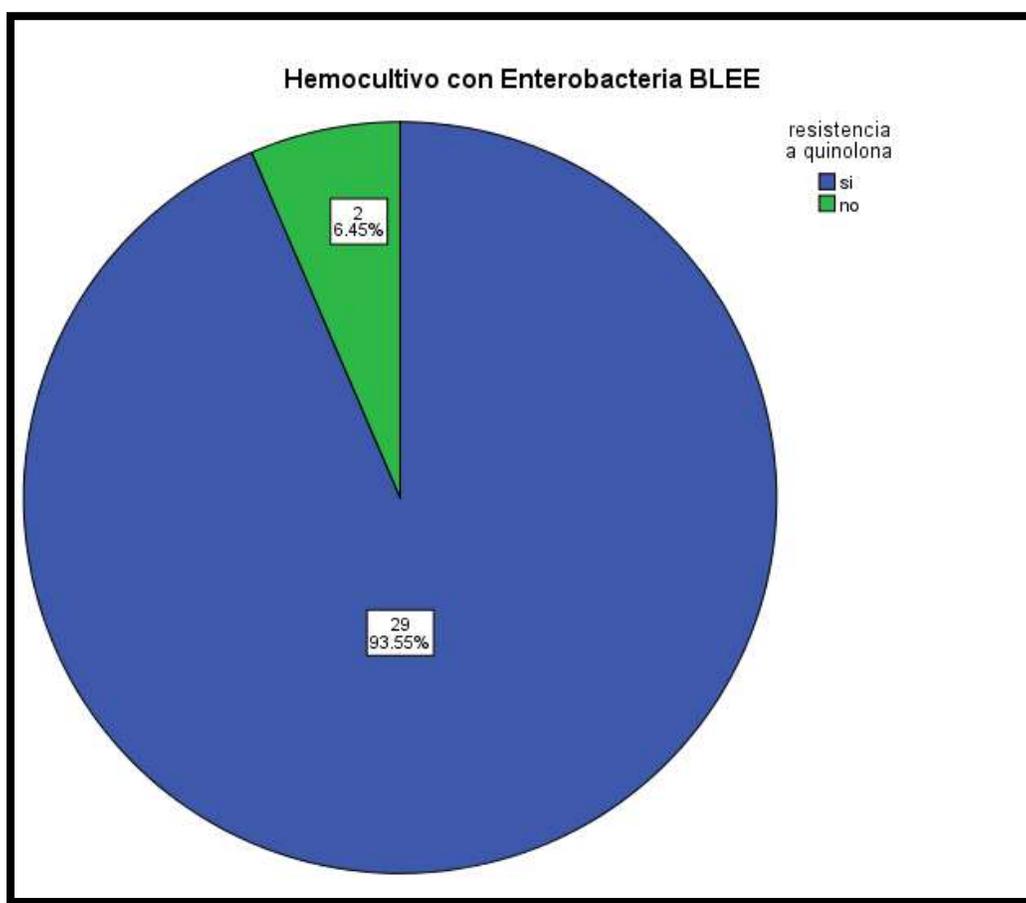
De los 28 cultivos de expectoración los dos microorganismos con mayor frecuencia fueron *Escherichia coli* con un 42.86% seguido de *Serratia marcescens* con un 28.57% encontrando la mayor resistencia a quinolonas en las cepas con crecimiento de *Escherichia coli*, siendo de un 83.33%. En las cepas de *Serratia* cabe recalcar la ausencia de resistencia a estos antimicrobianos.



Fuente: cédula (Anexo 1)

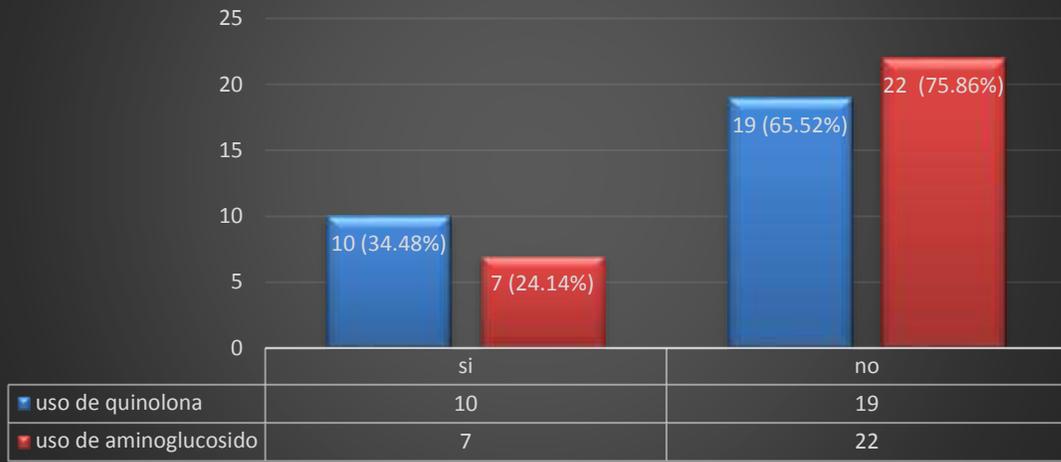
CORRELACION DE EXISTENCIA DE ENTEROBACTERIA BLEE Y USO PREVIO DE QUINOLONA Y/O AMINOGLUCOSIDO

En base a conocimientos de la literatura internacional en donde se documenta una relación con el uso de quinolona o aminoglucosido aproximadamente un mes previo y el desarrollo de enterobacteria productora de betalactamasa de espectro extendido se recabo a través del sistémica el uso previo de dichos antibioticos en nuestros cultivos positivos con enterobacterias BLEE. Al analizar los hemocultivos con enterobacterias BLEE se encontró una resistencia a quinolonas en 29 de los cultivos, de estos 10 utilizaron quinolonas previas y 7 utilizaron aminoglucosidos. A nivel de urocultivos 325 fueron resistentes a quinolonas y de estos 133 utilizaron quinolona y 59 aminoglucosido. En cultivos de expectoración fueron 13 los que presentaron resistencia a quinolonas y de estos los 13 utilizaron quinolona previa, solo 10 utilizaron aminoglucosido.

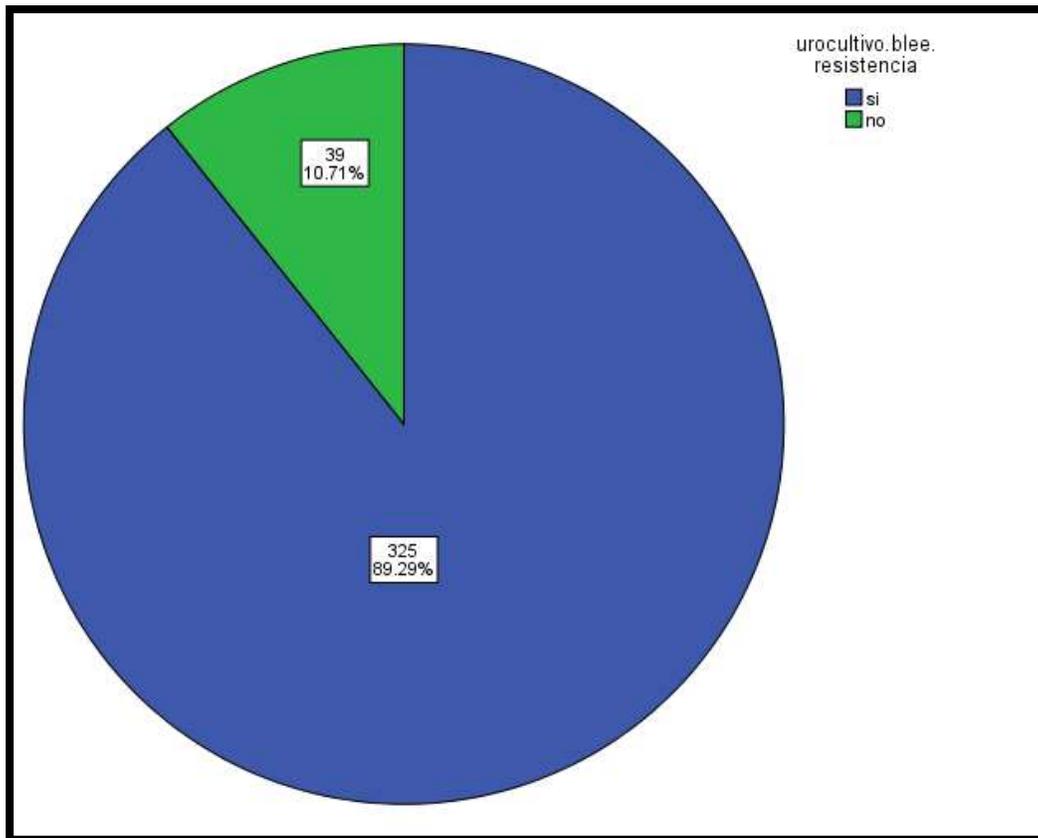


Fuente: cédula (Anexo 1)

Hemocultivos BLEE con resistencia a quinolonas

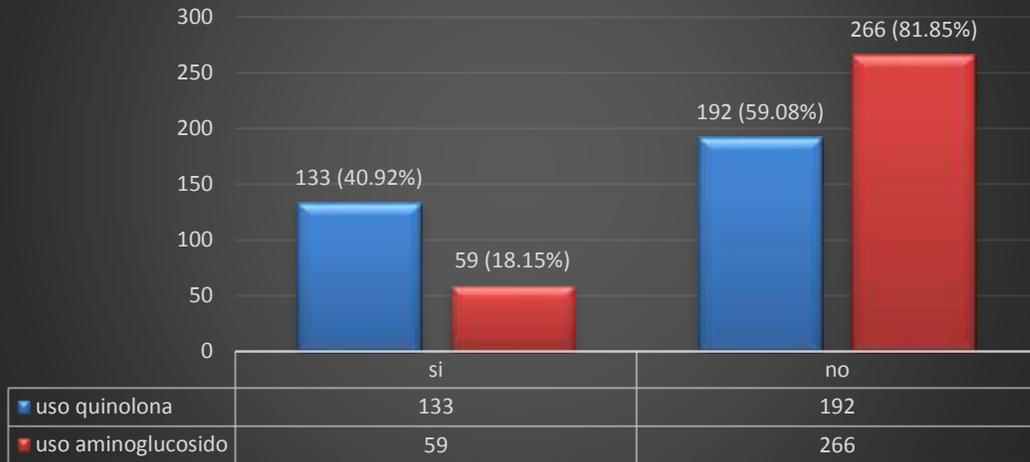


Urocultivo con enterobacteria BLEE



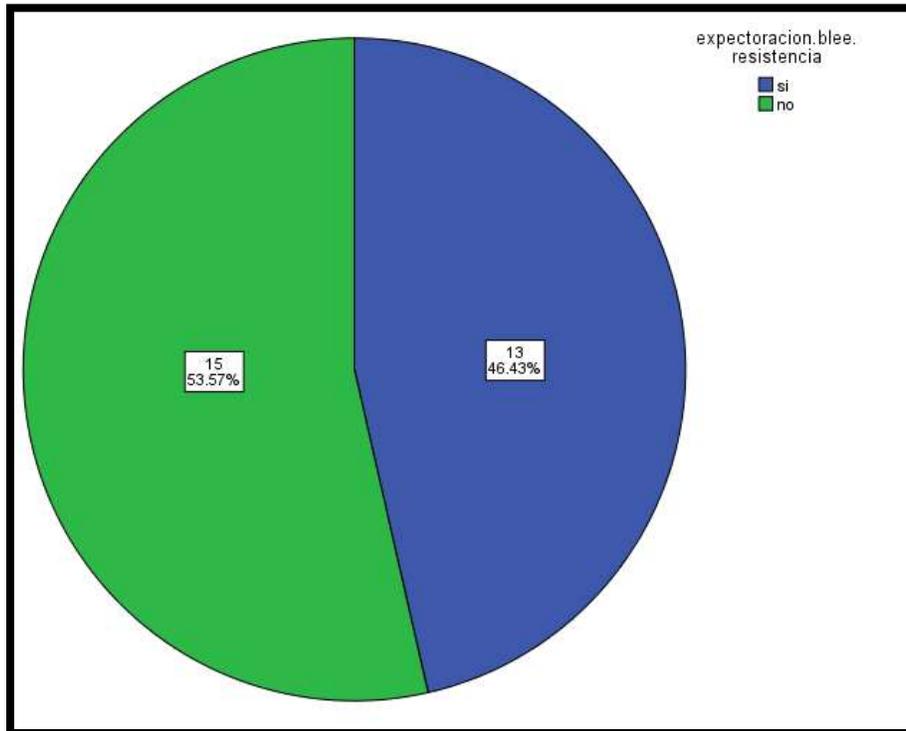
Fuente: cédula (Anexo 1)

Urocultivo con enterobacteria BLEE resistente a quinolona



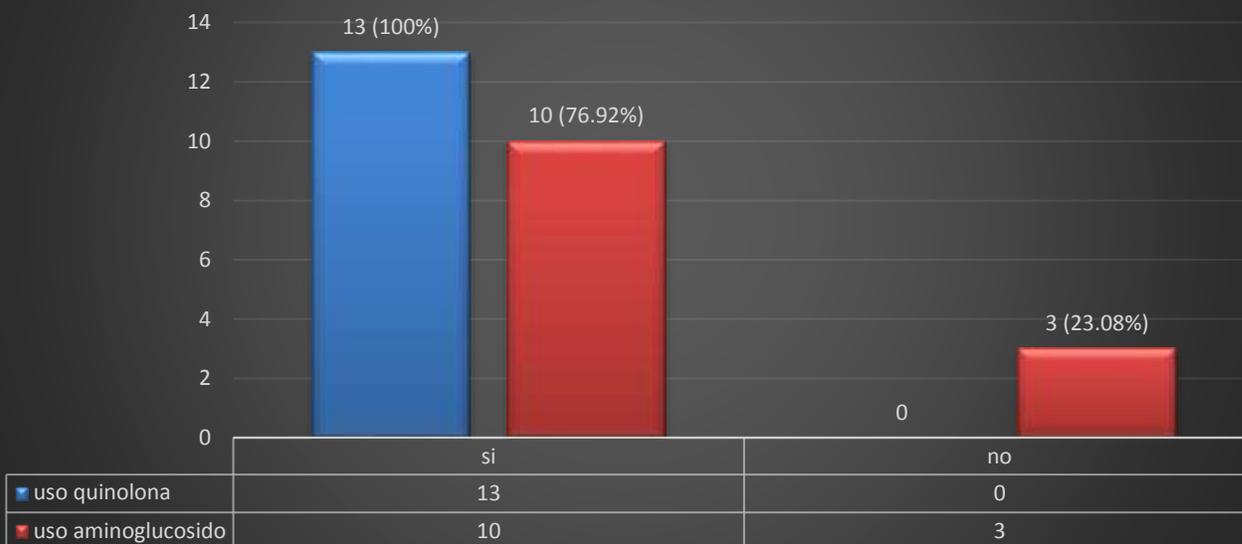
Fuente: cédula (Anexo 1)

Cultivo de expectoración BLEE con resistencia a Quinolonas



Fuente: cedula (Anexo 1)

Cultivos de expectoracion con enterobacteria BLEE resistentes aquinolonas



Fuente: cédula (Anexo 1)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se llevó a cabo un análisis bivariado en donde se determinó la correlación entre el factor de riesgo caracterizado por uso previo de quinolona y/o aminoglicosido y el desarrollo de enterobacteria BLEE resistente a quinolona. Se compararon variables categóricas a través del análisis con X^2 utilizando un valor de p como significativo si esta < 0.05 .

El análisis estadístico se calculó con el programa Social Science Statistics (SSS) encontrando los siguientes resultados:

De los 31 hemocultivos con presencia de Enterobacterias BLEE resistentes a quinolonas 10 utilizaron quinolona 1 mes previo y 7 aminoglicosidos. El cálculo de X^2 fue de 0.7489 con valor de p de 0.386817 por lo que no se considera estadísticamente significativo.

	quinolonas	aminoglicosidos	<i>Marginal Row Totals</i>
observado con uso	10 (8.5) [0.26]	7 (8.5) [0.26]	17
esperado sin uso	19 (20.5) [0.11]	22 (20.5) [0.11]	41
<i>Marginal Column Totals</i>	29	29	58 (Grand Total)

Fuente: SSS (Anexo 2)

De los 325 hemocultivos con presencia de Enterobacteria BLEE resistentes a quinolonas 133 utilizaron quinolona 1 mes previo y 59 aminogluosidos. El cálculo de X^2 fue de 40.4772 con valor de p de 0.00 por lo que se considera estadísticamente significativo.

	quinolonas	aminogluosidos	<i>Marginal Row Totals</i>
observado con uso	133 (96) [14.26]	59 (96) [14.26]	192
esperado sin uso	192 (229) [5.98]	266 (229) [5.98]	458
<i>Marginal Column Totals</i>	325	325	650 (Grand Total)

Fuente: SSS (Anexo 2)

Y finalmente de los 13 cultivos de expectoración con presencia de Enterobacteria BLEE resistente a quinolona 13 utilizaron quinolona 1 mes previo y 10 aminogluosidos. El cálculo de X^2 fue de 40.4772 con valor de p de 0.00 por lo que se considera estadísticamente significativo. El cálculo de X^2 fue de 3.3913 con valor de p de 0.065541 por lo que no se considera estadísticamente significativo.

	quinolonas	aminogluosidos	<i>Marginal Row Totals</i>
observado con uso	13 (11.5) [0.2]	10 (11.5) [0.2]	23
esperado sin uso	0 (1.5) [1.5]	3 (1.5) [1.5]	3
<i>Marginal Column Totals</i>	13	13	26 (Grand Total)

Fuente: SSS (Anexo 2)

Posteriormente al análisis de estos resultados observamos que únicamente a nivel de urocultivos se encontró significancia estadística de la correlación del uso previo de quinolona y/o aminogluosidos 1 mes previo y el desarrollo de Enterobacterias con BLEE.

10. DISCUSION

Las Enterobacterias productoras de betalactamasas son un fenómeno relativamente reciente, que han cobrado importancia en los últimos años pues reflejan el mal manejo de antibióticos propiciando resistencias bacterianas importantes no solamente a nivel de los antibióticos betalactámicos, así mismo en otras familias de antimicrobianos de amplio uso tanto en primer nivel como a nivel hospitalización. El uso empírico con carbapenémicos está ampliamente recomendado a nivel internacional y nacional sin embargo se ha observado importante resistencia en microorganismos nosocomiales asociado al abuso de esta familia de antimicrobianos. (11) (12)

En base a esto se recomienda en la literatura el uso de fluoroquinolonas encontrando en antibiograma sensibilidad a las mismas. Sin embargo existe la limitante de la reciente identificación del incremento de la resistencia a esta familia de antibióticos en enterobacterias productoras de BLEE.

En la literatura a nivel nacional encontramos que en el estudio que se llevó a cabo la Universidad de Filadelfia observaron una resistencia a quinolonas en enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido del 55.8% de forma global. Así mismo pudieron correlacionar con el uso 30 días previos de fluoroquinolona y aminoglicosidos. () En otro estudio realizado en la universidad de Iowa por medio de la división de microbiología y patología en conjunto con la división de enfermedades infecciosas y departamento de medicina en el hospital del colegio médico de China en Taichung Taiwan se observó una resistencia a ciprofloxacino del 18.5%, haciendo énfasis que la asociación de la resistencia bacteriana la presión local del uso de quinolonas más que con la diseminación de el microorganismo como tal a nivel intrahospitalario.

Otros estudios por mencionar en donde se ha encontrado importante resistencia a fluoroquinolonas específicamente en *Klebsiella pneumoniae* han sido en Estados Unidos por Lautenbach (2001), por Shahcheraghi (2007) en Irán y Tumbarello en Italia (2006) con 60%, 48% y 32% de resistencia respectivamente.

En México se llevó a cabo un estudio por la universidad autónoma de Nuevo León y el Hospital universitario Dr. José Eluterio González en el 2010 en donde también observaron resistencias por arriba del 50% en las enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido, en donde resaltan también el predominio de las cepas con subtipo CTX-M-15 a pesar de tener conocimiento del predominio a nivel nacional del subtipo SHV-5 lo que habla de una diseminación de este subtipo de enterobacteria.

Ahora hablando en referencia a los hallazgos a nivel de nuestro Hospital llama la atención la elevada resistencia a quinolonas principalmente a nivel urocultivos, teniendo predominio en las cepas de *Escherichia coli* a diferencia de la literatura que reporta mayor frecuencia en *Klebsiella*. En nuestro estudio la resistencia fluctuó entre 46.42% que se presentó en cultivos de expectoración y 90.32% en los hemocultivos, cabe recalcar que

es un dato alarmante pues es un porcentaje por arriba de lo reportado en literatura tanto nacional como internacional.

En cuanto a la correlación con el uso previo de aminoglicosidos y quinolonas en pacientes portadores de enterobacterias BLEE a nivel internacional hay estudios epidemiológicos como el reportado por Lautenbach et al en el 2001. A nivel nacional no hay estudios que evalúen este aparente factor de riesgo para desarrollo de enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido.

En nuestro hospital se analizo la correlacion del uso previo tanto de quinolonas como de aminoglicosidos al menos un mes previo y el desarrollo de enterobacterias BLEE siendo estadísticamente significativo en los urocultivos (p value= 0.00)

Partiendo desde este punto debemos tomar medidas específicas para modificar este factor de riesgo específico que modificara el patrón de resistencia a quinolonas en las enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido. No debemos olvidar que hay medidas generales por abordar para disminuir también la diseminación de estos microorganismos a nivel hospitalario y a través de los trabajadores de la salud en otros medios como asilos o casas de cuidado.

11. CONCLUSIONES

En base a los hallazgos de este estudio descriptivo se puede observar un alto porcentaje de resistencia a el grupo de las fluoroquinolonas (tomando en cuenta resistencia ya sea a levofloxacino o moxifloxacino con una CMI >9-16 respectivamente) documentando en cultivos de expectoración una resistencia del 46.42%, en urocultivos del 89.28% y en hemocultivos del 90.32%. Como se comentó previamente es un porcentaje elevado en comparación a estudios internacionales y nacionales, principalmente a nivel de urocultivos y hemocultivos. Es importante también mencionar que *Escherichia coli* fue el microorganismo con mayor frecuencia y a la vez el que presentó el porcentaje de mayor resistencia, presentando en hemocultivos una resistencia de 96.30%, en urocultivos del 92.09% y en cultivos de expectoración 83.33%. Con estos hallazgos se acepta nuestra hipótesis evidenciando a través de este parámetro el mal uso de antibióticos, no solo reflejando su asociación con el uso indiscriminado de betalactámicos cobrando importancia también la correlación con el uso previo de quinolonas y aminoglucosidos los cuales causan alteraciones en la permeabilidad de la membrana bacteriana resultando con una resistencia concurrente a las quinolonas.

Otro factor importante que sería importante evaluar es la diseminación intrahospitalaria de estos microorganismos pues ya es también conocido que la falta de aislamiento, aseo y cuidados específicos propicia la diseminación a través del personal de salud. También deberá considerarse en aquellos pacientes con riesgo evitar en lo posible hospitalizaciones prolongadas e invasión innecesaria pues ambos favorecen el crecimiento de bacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido.

Cobra importancia mencionar el papel fundamental del médico como intermediario en este problema de salud, ya que es quien deberá hacer conciencia del empleo de antibióticos de forma adecuada, esto en relación a el padecimiento de nuestros pacientes. Ante todo determinar quién ameritara uso de antibiótico en caso de ser necesario, si se inicia el manejo en primer nivel los esquemas deberán ser apropiados en base a la enfermedad a tratar por el tiempo indicado.

Si se implementan medidas específicas para el control de brotes de enterobacterias con betalactamasa de espectro extendido y a la vez para disminuir los factores de riesgo asociados a el desarrollo de resistencia a quinolonas podremos en un futuro disminuir la frecuencia de estas bacterias a nivel intrahospitalario y a la vez disminuir la resistencia a antibióticos alternativos a los carbapenémicos con la intención de tener mayores opciones terapéuticas ante estas bacterias.

12. RECOMENDACIONES

Como pudimos observar la resistencia a quinolona en enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido es elevada en nuestro hospital, así como la correlación con el uso previo de quinolonas y aminoglicosidos.

Se ha comentado previamente que son múltiples los factores asociados a esta resistencia, de los cuales destacan el uso previo e indiscriminado de antibióticos (principalmente cefalosporinas de tercera generación, quinolonas y aminoglicosidos), estancias prolongadas en UTI, intubación traqueal, presencia de accesos venosos, arteriales, sondaje vesical, re intervenciones quirúrgicas, edad avanzada, ventilación mecánica y proximidad a pacientes colonizados o infectados con estas bacterias productoras de BLEE. Se ha comentado así mismo en la literatura acerca de la diseminación de estas bacterias, siendo responsable habitualmente el personal de salud al llevar a cabo el manejo del paciente y al realizar maniobras sin adecuado aseo previo.

A continuación mencionare las recomendaciones propuestas para llevarse a cabo en nuestro hospital con la intención de prevenir brotes por bacterias productoras de betalactamasas y otras enfocadas a disminuir resistencia a quinolonas de forma que podamos tener opciones terapéuticas al estar frente a estos microorganismos:

- Será importante identificar a los pacientes hospitalizados con colonización de dichas bacterias
- Deberán ser aislados en habitación individual instruyendo al personal y familia sobre las medidas de contacto con el fin de evitar diseminación de tal microorganismo
- Se deberá usar guantes (pueden ser no estériles) para la manipulación del paciente
- Se recomienda el aseo de manos en los 5 momentos recomendados por la OMS y bajo los lineamientos establecidos a nivel de Hospital Central Norte de Pemex.
- Al llevarse a cabo manejo de secreciones o fluidos se recomienda el uso de mascarilla durante procedimientos.
- Limitar el traslado del paciente fuera de su habitación y notificar al servicio receptor de las medidas de aislamiento
- Evitar en lo posible los procedimientos invasivos así como limitar el uso de los mismos de forma que no sean utilizados por mayor tiempo del requerido.
- Se recomienda instruir a médicos de primer nivel en referencia a las enterobacterias productoras de BLEE y los factores de riesgo asociados con las resistencias antimicrobianas tanto en relación a betalactámicos como otros grupos de antibióticos.
- A nivel de la consulta externa deberá limitarse el uso de las cefalosporinas de tercera generación, quinolonas y aminoglicosidos por lo que se recomienda orientar y capacitar a los médicos de primer nivel en cuanto a las alternativas terapéuticas para los distintos tipos de procesos infecciosos manejados a este nivel. Sobre todo concientizar a los médicos de primer nivel de la repercusión del uso inapropiado e indiscriminado de estas familias de antimicrobianos.

- Específicamente en las infecciones de vías urinarias se recomienda el tratamiento inicial en base a nitrofurantoina y trimetoprim con sulfametoxazol los cuales han mostrado importante sensibilidad a nuestro nivel hospitalario, evitando en lo posible iniciar el manejo con cefalosporina de tercera generación, amino glucósido o quinolona.
- A nivel intrahospitalario se recomienda también el uso discreto de los antimicrobianos mencionados así como el cultivar a los pacientes para la obtención del crecimiento bacteriano específico con la intención de escalar o desescalar antibióticos en caso de ser necesario.
- En caso de tener un cultivo con crecimiento de enterobacteria BLEE sensible a quinolona deberá considerarse como una opción terapéutica previa al uso de carbapenémico para evitar la resistencia en otros patógenos nosocomiales.

13. ORGANIZACIÓN

Autor: Triana Gabriela Salgado Muñoz

Dr. Jose Oscar Teran Gonzalez
Director de Tesis

Dra. Sheila Vazquez Arteaga
Asesor de Tesis

Dr. Abraham Emilio Reyes Jimenez
Asesor de Tesis

Dr. Javier Castro de Franchis
Asesor de Tesis

Vo.Bo

Dr. Carlos Araiza Casillas
Director del Hospital Central Norte Petroleos Mexicanos

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

14. BIBLIOGRAFIA

- 1) Bush, K., G.A. Jacoby, et al 1995. A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 39 (6): 1211-33
- 2) Sirot D. Extended-spectrum plasmid-mediated β -lactamases. *J. Antimicrob Chemother.* 1995;36:19-34
- 3) Jacoby GA. Extended-spectrum β -lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino β -lactams. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 1997; 11:875-87
- 4) Lautenbach, E., J. B. Patel, W. B. Bilker, P.H. Edelstein, and N.O. Fishman 2001. Extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin. Infect. Dis.* 32:1162-1171
- 5) Gales AC, Sader HS, Jones RN. Urinary tract infection trends in Latin American hospitals: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44:289-299
- 6) Peleg AY, Hooper DC. Hospital acquired infections due to gram-negative bacteria. *N. Engl J Med* 2010; 362:1804-1813
- 7) Silva J, Gatica R, Aguilar C, et al. Outbreak of infection with extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Mexican hospital. *J. Clin. Microbiol* 2001;39:3193-3196
- 8) Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infections resistant to late generation cephalosporins. *Ann intern Med* 1993; 119:353-8
- 9) Asensio, A., A. Oliver, P. Gonzalez- Diego, F. Baquero, J.C. Perez-Diaz, P. Ros, J. Cobo, M. Palacios, D. Lasheras, and R. Canton. 2000. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as a risk factor for colonization and infection. *Clin. Infecgt. Dis.* 30:55-60
- 10) Endimiani, A., F. Luzzaro, M. Perilli, G. Lobardi, A. Coli, A. Tamborini, G. Amicosante, and A. Toniolo. 2004. Bacteremia due to *Klebsiella pneumoniae* isolates producing the TEM-52 extended-spectrum beta-lactamase: treatment outcome of patients receiving imipenem or ciprofloxacin. *Clin. Infect. Dis.* 38:243-251
- 11) Huang Z. M., P.H. Mao, Y. Chen, L. Wu, and J. Wu. 2004. Study on the molecular epidemiology of SHV type beta-lactamase-encoding genes of multiple-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 25:425-427
- 12) Poirel, L., E. Lebessi, M. Castro, C. Fevre, M. Foustoukou, and P. Nordmann. 2004. Nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamase SHV-5 producing isolates of *Pseudomonas aureginosa* in Athens, Greece. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48:2277-2279
- 13) Bermejo J, Lesnabares P, Arnesi N, Gianello M, Notario R, Borda N, et al. Factores de riesgo asociados con las infecciones debidas a *Klebsiella pneumoniae* resistentes a ceftazidima. *Enferm infec microbiol clin* 2003; 21:72-6

- 14) Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicilium, with a special reference to their use in the isolation of B. influenza. Br J Exp Pathol. 1929;10:226-236
- 15) Mandell, G.L., J.E. Bennet, et al. (2010) "Principles and Practice of Infectious Diseases" tomo 1: 881-883, tomo 2: 2567-2586. 7ma Edicion
- 16) Mackowiak PA, Martin RM, Jones SR, et al. Pharyngeal colonization by gram-negative bacilli in aspiration-prone persons. Arch Intern Med 1978;138: 1224-27
- 17) Raz R, Stamm WE. A controlled trial of intravaginal estriol in postmenopausal women with recurrent urinary tract infections. N Engl J Med 1993; 329:753-756
- 18) Escolar L, Perez-Martinez J, De Lorenzo V. Opening the iron box: transcriptional metalloregulation by the Fur protein. J Bacteriol 1999; 181: 6223-6229
- 19) Reife RA, Shapiro RA, Bamber BA, et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide is poorly recognized by molecular components of innate host defense in a mouse model of early inflammation. Infect Immun 1995;63:4686-4694
- 20) Horwitz MA, Silverstein SC. Influence of the Escherichia coli capsule on component fixation and on phagocytosis and killing by human phagocytes. J Clin Invest 1980;65:82-94
- 21) Lessl M, Lanka E. Common mechanisms in bacterial conjugation and Ti-mediated T-DNA transfer to plant cells. Cell 1994; 77:321-324
- 22) Leverstein-van Hall MA, Blok HEM, Donders AR, et al. Multidrug resistance among Enterobacteriaceae is strongly associated with the presence of integrins and is independent of species or isolate origin. J Infect Dis 2003; 187:251-259
- 23) Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicilium, with a special reference to their use in the isolation of B. influenza. Br J Exp Pathol. 1929;10:226-236
- 24) Marin, M and F. Gudiol (2003) "beta lactam antibiotics". Enfermedades infecciosas Microbiol Clin 21 (1):42-55
- 25) Bush, K., G.A. Jacoby, et al 1995. A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 39 (6): 1211-33
- 26) Gupta, V. 2007. An update on newer beta lactamases on the rise. Indian J Med Res 126 (5): 417-27.
- 27) Ambler, R. P. (1980). The Structure of beta-lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 289 (1036): 321-31
- 28) Bradford PA. Extended-spectrum B-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14:933-51
- 29) Paterson DL, Bonomo RA. Extended spectrum B- Lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 18:657-86
- 30) Jacoby GA, Muñoz-Price LS. The new Beta lactamases. N Engl J Med 2005; 352:380-91
- 31) Knothe, H., P. Shah, et al 1983. Transferable resistance to cefotaxime, coxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of Klebsiella pneumonia and Serratia Marcescens. Infection 11 (6): 315-7

- 32) Legrand P, Fournier G, Bure A, et al. 1989. Detection of extended broad spectrum beta lactamases in teneobacteriaceae in four French hospitals. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 8:527-29
- 33) Helio S, Mariana C, Rodrigo E, et al. 2004. Dissemination and diversity of metallo β -lastamases in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial Surveillance Program. *Int. Journal. Antimicrob. Agents* 25:57-61
- 34) Meyers KS, Urban C, Eagan JA, et al. 1993. Nosocomial outbreak of Klebsiella pneumoniae resistan to late generation cephalosporins. *Annals. Inter. Med.* 119:353-58
- 35) Peña C, Pujol M, Ardanuy C, et al. 1998. Epidemiology and succesful control of a large outbreak due to Klebsiella pneumoniae producing extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemothe.* 42:53-38
- 36) Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, et al. 1999. Multiple antibiotic resistant Klebsiella and Escherichia coli in nursering homes. *JAMA* 281-517-523
- 37) Weill FX, Demartin M, Tande D, et al. 2004. SHV-12 like extended spectrum β -lactamase producing strains of Salmonella enterica serotypes babelsberg and enteritidis isolated in France among infants adopted from Mali. *J. Clin. Microbiol.* 42:2432-37
- 38) Paterson DL, Yu VL 1999. Extended-spectrum β -lactamases: A call for improved detection and control. *Clin. Infect. Dis.* 29:1419-1422.
- 39) Paterson DL, Singh N, Rihs JD, et al. 2001. Control of an extended spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli in a liver transplantation unit. *Clin. Infect. Dis.* 33:126-128
- 40) Winkour PL, Canton R, Casellas JM. Et al. 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.* 32:94-103
- 41) Datta, N., P. kontomichalou 1965. Penicilinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* 208:239-241
- 42) Du Bois SK, Marriott MS, Amyes SGB 1995. TEM and SHV derived extended-spectrum β -lactamases: relationship between selection, structure and function. *J. Antimicrob. Chemothe.* 35:7-22
- 43) Jacoby, G. A., and A. A. Madeiros. 1991. More extended-spectrum betalactamases. *Antimicrob. Agents Chemothe.* 35: 1697-1704.
- 44) Sougakoff, W., S. Goussard, G. Gerbaud, and P. Courvalin. 1988. Plasmid mediated resistance to thirde generation cephalosporins caused by point mutations in TEM-type penicilinase genes. *Rev. Infect. Dis.* 10: 879-884.
- 45) Dumarche P, Champs C, Sirot D, et al. 2002. TEM derivative producing Enterobacter aerogenes strains: dissemination of a prevalent clone. *Antimicrob. Agents Chemothe.* 46: 1128-1131
- 46) Perilli M, Segatore B, Massis MRD. Et al. 2000. TEM-72 a new extended-spectrum betalactamase detected in Proteus mirabilis and Morganella morgani in Italy. *Antimicrob. Agents Chemothe.* 44: 2537-2539
- 47) Marchandin H, CArriere C, Sirot D, et al 1999. TEM-24 produced by four different species of Enterobacteriaceae including Providencia rettgeri in a single patient. *Antimicrob. Agents Chemothe.* 43: 2069-2073

- 48) Morosini ML, Canton R, Martinez-Beltran J, et al. 1995. New extended-spectrum TEM-type β -lactamase from *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* isolated in a nosocomial outbreak. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 458-461
- 49) Tzouvelekis LS, Bonomo RA. 1999. SHV type β -lactamase. *Curr. Pharm. Des.* 5:847-864
- 50) Huletsky A, Couture F, Levesque RC. 1990. Nucleotide sequence and phylogeny of SHV-2 β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34: 1725-1732
- 51) Knothe, H., P. Shah, V. Krcmery, M. Antal, and S. Mitsuhashi 1983. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* and *Serratia marcescens*. *Infection* 11:315-317
- 52) El Harrif-Heraud Z, Arpin C, Benliman S, et al 1997. Molecular epidemiology of a nosocomial outbreak due to SHV-4 producing strains of *Citrobacter diversus*. *J. Clin. Microbiol.* 35:2561-2567
- 53) Huang Z. M., P.H. Mao, Y. Chen, L. Wu, and J. Wu. 2004. Study on the molecular epidemiology of SHV type beta-lactamase-encoding genes of multiple-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 25:425-427 (11)
- 54) Baraniak, A., J. Fiett, A. Sulikowska, W. Hryniewicz, and M. Gniadkowski. 2002. Ceftazidime-hydrolysing CTX-M-15 extended-spectrum beta lactamase (ESBL) in Poland. *J. antimicrob Chemother.* 50:393-396
- 55) Poirel, L., M. Gniadkowski, and P. Nordmann. 2002. Biochemical analysis of the ceftazidime- hydrolyzing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15 and of its structurally related beta-lactamase CTX-M-3. *J. Antimicrob. Chemother.* 50:1031-1034
- 56) Tzuovelekis LS, Tzelepi E, Tassios PT, et al 2000. CTX-M type β -lactamases an emerging group of extended spectrum enzymes. *Int. J. Antimicrob. Agents* 14-137-143.
- 57) Labia, R. 1999. Analysis of the bla (toho) gene coding for Toho-2 beta-lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:2576-2577
- 58) Ma, L., Y. Ishii, M. Ishiguro, H. Matsuzawa, and K. Yamaguchi. 1998. Cloning and sequencing of the gene encoding Toho-2, a class A betalactamase preferentially inhibited by tazobactam. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 1181-1186
- 59) Weldhagen, G. F., Poirel, and P. Nordmann. 2003. Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aureginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47: 2385-2392
- 60) Alonso R, GERbaud G, Galimand M, et al 2000. TEM-103/IRT-28 betalactamase, a new TEM variant produced by *Escherichia coli* BM4511. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46:3627-3629
- 61) Chaibi EB, Sirot D, Paul G, et al. 1999. Inhibitor-resistant TEM- β -lactamase phenotype, genetic and biochemical characteristics. *J. Antimicrob. Chemother.* 43:447-458
- 62) Bonnet, R., J. L. Sampaio, R. labia, C. de Champs, D Sirot, C. Chanal, and J. Sirot. 2000. A novel class A extended-spectrum beta-lactamase (BES-1) in *Serratia marcescens* isolated in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:3061-3068

- 63) Giakkoupi, P., L. S. Tzouveleakis, A. Tsakris, V. Loukova, D. Sofianou and E. Tzelepi. 2000. IBC-1, a novel integrin-associated class A beta-lactamase with extended-spectrum properties produced by an enterobacter cloacae clinical strain. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:2247-2253
- 64) Nordmann P, Ronco e, Nass T, et al. 1993. Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aureginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 962-969
- 65) Neuhauser, M. M., R. A. Weinstein, R. Rydman, L. H. Danziger, G. Karam, and J.P. Quinn. 2003. Antibiotic resistance among gram-negative bacilli in US intensive care units: implications for fluoroquinolone use. *JAMA* 289:885-888
- 66) Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, et al. 1996. Characterization of β -lactamase gene bla PER-2 which encodes an extended-spectrum class A β -lactamase. *Antimicrob. Agents chemother.* 40:616-620
- 67) Poirel, L., T. Naas, M. Guibert, E. B. Chaibi, R. Labia, and P. Nordmann. 1999. Molecular and biochemical characterization of VEB-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase encoded by an *Escherichia coli* integrin gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:573-581
- 68) Rossolini GM, Franceschini N, Lauretti L. et al. 1999. Cloning of a *Chryseobacterium* (*Flavobacterium*) *meningosepticum* chromosomal gene (bla CME) encoding an extended-spectrum class A β -lactamase related to the *Bacteroides cephalosporinases* and the VEB-1 and PER β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:2193-2199
- 69) Silva J, Aguilar C, Ayala G, et al. 2000. TLA-1: a new plasmid mediated extended-spectrum β -lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:997-1003
- 70) Bisson, G., N. O. Fishman, J. B. Patel, P.H. Edelstein, and E. Lautenbach. 2002. Extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 23:254-260
- 71) Wiener, J., J.P. Quinn, P.A. Bradford, R.V. Goering, C. Nathan, K. Bush, and R.A. Weinstein. 1999. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *JAMA* 281:517-523
- 72) Lucet, J.C., S. Chevret, D. Decre, D. Vanjak, A. Macrez, J.P. Bedos, M. Wolff, and B. Regnier. 1996. Outbreak of Multiply resistant enterobacteriaceae in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin. Infect. Dis.* 22:430-436
- 73) Pena, C., M. Pujol, A. Ricart, R. Pallares, J. Ariza and F. Gudiol. 1997. Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. *J. Hosp. Infect.* 35:9-16
- 74) Mangeney, N., P. Niel, G. Paul, E. Faubert, S. Hue, C. Dupeyron, F. Nordmann, 2005. A 5-year epidemiological study of extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a medium-and long-stay neurological unit. *J. Appl. Microbiol.* 88:504-511

- 75) Du, B., Y. Long, H. Liu, D. Chen, D. Liu, Y. Xu, and X. Xie. 2002. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome. *Intensive Care Med.* 28: 1718-1723
- 76) Eveillard, M., J.L. Schmit, and F. Eb. 2002. Antimicrobial use prior to the acquisition of multiresistant bacteria. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 23:155-158
- 77) Bradford, P.A., C. Urban, A. Jaiswal, N. Mariano, B.A. Rasmussen, S.J. Projan, J.J. Rahal, and K. Bush. 1995. SHV-7, a novel cefotaxime-hydrolyzing beta-lactamase, identified in *Escherichia coli* isolates from hospitalized nursing home patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:899-905
- 78) Bird, J., R. Browning, R.P. Hobson, F.M. MacKenzie, J. Brand, and I. M. Gould. 1998. Multiply-resistant *Klebsiella pneumoniae*: failure of spread in community-based elderly care facilities. *J. Hosp. Infect.* 40:243-247
- 79) Smith, P.W., C.W. Seip, S.C. Schaefer and C. Bell-Dixon. 2000. Microbiologic survey of long-term care facilities. *Am. J. Infect. Control.* 28:8-13
- 80) Denman, S.J., and J.R. Burton. 1992. Fluid intake and urinary tract infection in the elderly. *JAMA* 267:2245-2249
- 81) Brigante, G., F. Luzzaro, M. Perilli, G. Lombardi, A. Coli, G.M. Rossolini, G. Amicosante, and A. Toniolo. 2005. Evolution of CTX-M type beta-lactamases in isolates of *Escherichia coli* infecting hospital and community patients. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 25:157-162
- 82) Rodriguez-Bano, J., M.D. Navarro, L. Romero, L. Martinez-Martinez, M.A. Muniain, E.J. Perea, R. Perez-Cano, and A. Pascual. 2004. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *J. Clin. Microbiol.* 42:1089-1094
- 83) Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, et al. 2001 b. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Clin. Infect. Dis.* 33: 1288-1294
- 84) Rahal JJ, Urban C, Horn D, et al. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *Klebsiella*. *JAMA* 1998:280-1233-7
- 85) Urban C, Go E, Mariano N, Berger BJ, Avraham I, Rubin D. Effect of sulbactam on infections caused by imipenem-resistant *Acinetobacter calcoaceticus* biotype anitratus. *J. Infect. Dis* 1993;167:448-51
- 86) Karas JA, Pillay DG, Muckart D. Treatment failure due to extended-spectrum β -lactamase. *J. Antimicrob Chemother.* 1996;37:203-204
- 87) Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, et al. 2000. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum β -lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin. Infect. Dis.* 30:473-478
- 88) Masuda N, Ohya S. Cross-resistance to meropenem, cephems, and quinolones in *Pseudomonas aureginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:1847-51
- 89) Strausbaugh LJ, Crossley KB, Nurse BA, Thrupp LD. Antimicrobial resistance in long-term-care facilities. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol* 1996;17:129-40

- 90) Bradford, P.A., C. Urban, N. Mariano, S.J. Projan, J.J. Rahal, and K. Bush. 1997. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid mediated AmpC beta lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41:563-569
- 91) Burgess, D.S., R.G. Hall, Jr., J. S. Lewis, Jr., J.H. Jorgensen, and J.E. Patterson. 2003. Clinical and microbiologic analysis of a hospital's extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates over a 2-year period. *Pharmacotherapy* 23:1232-1237
- 92) Archambaud, M., E. Labau, D. Clave, and C. Suc. 1989. Bactericidal effect of cefotaxime-sulbactam and imipenem combined with gentamicin and/or ciprofloxacin against CTX-1 producing *Klebsiella pneumoniae*. *Pathol. Biol. (Paris)* 37:534-539
- 93) Corbella X, Montero A, Pujol M, et al. 2000. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J.Clin. Microbiol.* 38:4086-4095
- 94) Ahmad M, Urban C, Mariano N, et al. 1999. Clinical characteristics and molecular epidemiology associated with imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Clin. Infect. Dis.* 29:352-355.
- 95) Martinez-Martinez L, Pascual A, Hernandez S, et al. 1999. Roles of β -lactamases and porins in activities of carbapenems and cephalosporins against *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:1669-1673
- 96) Paterson DL y Yu VL. 1999. Extended-spectrum β -lactamases: A call for improved detection and control. *Clin. Infect. Dis.* 29:1419-1422
- 97) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 15th informational supplement (M100-S15). National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
- 98) Tzelepi E, Giakkoupi P, Sofianou D. et al. 2000. Detection of extended spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J. Clin. Microbiol.* 38-542-546
- 99) Brown, D.F., J. Andrews, A. King, and A. P. MacGowan 2000. Detection of extended-spectrum beta-lactamases with E-test and double-disc potentiation methods. *J. Antimicrob. Chemother.* 46:327-328
- 100) Centers for Disease Control. 2000. Laboratory capacity to detect antimicrobial resistance. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 48:1167-1171
- 101) Tzouvelekis, L. S., A. C. Vatopoulos, G. Katanis, and E. Tzelepi. 1999. Rare case of failure by an automated system to detect extended-spectrum beta-lactamase in a cephalosporin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolate. *J. Clin. Microbiol.* 37:2388

15. ANEXOS

Anexo 1.

Excel spreadsheet showing a list of patients and their test results. The spreadsheet has columns for ID, CODIGO, EMP, PACIENTE, FECHA TOMA, MEDICO, ESPECIALIDAD, CVE_ESTUDIO, CVE_PABIM, RESULTADO, CVE_TIPO, and ESTADUS. The data includes patient names like GUILBERMINA PÉLA ZAVALA and dates of tests ranging from 2014 to 2015.

ID	CODIGO	EMP	PACIENTE	FECHA TOMA	MEDICO	ESPECIALIDAD	CVE_ESTUDIO	CVE_PABIM	RESULTADO	CVE_TIPO	ESTADUS
1	120854	0	D GUILBERMINA PÉLA ZAVALA	01/01/2014.0000	FRANCISCO	ENDOCRINO	701	1	ESCHERICHIA COLI >500 000UFC/ML AMIACI	0	0
2	120854	0	D GUILBERMINA PÉLA ZAVALA	01/01/2014.0000	FRANCISCO	TERAPIA INT	701	1	ESCHERICHIA COLI >500 000UFC/ML AMIACI	0	0
3	120858	0	D GUILBERMINA PÉLA ZAVALA	01/01/2014.0000	FRANCISCO	TERAPIA INT	701	1	ESCHERICHIA COLI >500 000UFC/ML AMIACI	0	0
4	120858	0	D GUILBERMINA PÉLA ZAVALA	01/01/2014.0000	FRANCISCO	TERAPIA INT	701	1	ESCHERICHIA COLI >500 000UFC/ML AMIACI	0	0
5	71829	6	D MARIA EUGENIA MARIAGA GONZALEZ	01/02/2012.0000	CARLOS ALB	MEDICINA G	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
6	76649	0	D ARMANDO HERRERA CUBILLA	01/02/2012.0000	MARIA IVOT	MEDICINA G	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
7	78040	12	D ARA KAREN VALEZ CECILIO	01/02/2012.0000	COSEME BARI	MEDICINA G	701	1	SYNTHIBACTER AEROGENS	5	5
8	78040	12	D ARA KAREN VALEZ CECILIO	01/02/2012.0000	COSEME BARI	MEDICINA G	701	3	>100 000 UFC/ML ENTEROBACTER AEROGENS	4	4
9	20143	8	D ANAIBEL ZURBITA HERNANDEZ	01/02/2013.0000	ELBA YASICA	MEDICINA G	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
10	48182	0	D JOSE DE JESUS AGUILAR GALLARDO	01/02/2013.0000	ABRAHAM E	MEDICINA G	701	1	ESCHERICHIA COLI	4	4
11	133013	5	D MARIA CONCEPCION GOMEZ MARQUE	01/02/2013.0000	ALDANORO	NEFROLOGI	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
12	342076	0	D GINA GEORGINA RESENDIZ ROSALES	01/02/2013.0000	JOSE OSCAR	NEFROLOGI	701	1	ESCHERICHIA COLI	4	4
13	345380	8	D ARA JIMENEZ PEREZ	01/02/2013.0000	IVETTE CRAJ	ENDOCRINO	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
14	482432	14	D ANAIBEL BLANQUET GARCIA	01/02/2013.0000	ANGELICA S	PEDIATRIA	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
15	222024	8	D GLORIA HERNANDEZ ORTIZ	01/02/2014.0000	FELIPE GARY	MEDICINA G	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
16	74748	0	D RAUL JORGE CALDERON Y RODRIGUEZ	01/02/2015.0000	ARIADNA A	NEFROLOGI	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
17	74748	0	D RAUL JORGE CALDERON Y RODRIGUEZ	01/02/2015.0000	ARIADNA A	NEFROLOGI	701	5	ESCHERICHIA COLI >500 000UFC/ML	4	4
18	157087	0	D FELISA GARCIA MARTINEZ	01/03/2012.0000	RICARDO G	UROLOGIA	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
19	137087	0	D FELISA GARCIA MARTINEZ	01/03/2012.0000	RICARDO G	UROLOGIA	701	3	>100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI	4	4
20	449614	8	D MARIA DEL CARMEN MANO AVACOR	01/03/2012.0000	SILVIA AREL	MEDICINA G	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
21	449614	8	D MARIA DEL CARMEN MANO AVACOR	01/03/2012.0000	SILVIA AREL	MEDICINA G	701	3	>100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI	4	4
22	486023	8	D	01/03/2012.0000	FELIPE GARY	MEDICINA G	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
23	486023	8	D	01/03/2012.0000	FELIPE GARY	MEDICINA G	701	3	>100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI	4	4
24	487415	0	D HILDA PATRICIA MARTINEZ SANCHEZ	01/03/2012.0000	MARCO ANT	CONTROL PE	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
25	487415	0	D HILDA PATRICIA MARTINEZ SANCHEZ	01/03/2012.0000	MARCO ANT	CONTROL PE	701	5	>100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI	4	4
26	73728	0	D ROSA MARIA MADEL GOMEZ	01/03/2013.0000	RICARDO G	UROLOGIA	701	1	ESCHERICHIA COLI	5	5
27	85282	6	D SOLEDAD SANCHEZ OLIVERA	01/03/2013.0000	ROBERTO P	MEDICINA G	701	1	ESCHERICHIA COLI	4	4
28	133280	0	D SANTA ESCANDON PERAZA	01/03/2013.0000	ELBA YASICA	MEDICINA G	701	1	HELIOSHELLA DENTITINDITICA	5	5
29	28214	8	D GLORIA VILLACOROS VAQUERO	01/04/2013.0000	MARITZA LA	CONTROL PE	701	1	ESCHERICHIA COLI	4	4
30	45599	8	D	01/04/2013.0000	ARIADNA A	NEFROLOGI	701	3	>100 000 UFC/ML ESCHERICHIA COLI	4	4

Anexo 2.

Web browser showing a Chi-square calculator website. The page displays a contingency table and the results of a Chi-square test.

Contingency Table:

	quinolonas	aminoglicosidos	Marginal Row Totals
observado con uso	133 (36) [14.26]	59 (96) [14.26]	192
observado sin uso	192 (229) [5.98]	266 (229) [5.98]	458
Marginal Column Totals	325	325	650 (Grand Total)

Chi-square results:
 The Chi-square statistic is 40.4772. The P value is 0. This result is significant at $p < 0.05$.

