

UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

DERECHOS DE PUBLICACIÓN

DEL REGLAMENTO DE GRADUACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

Capítulo VI, Art. 46

“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”

PUBLICADO BAJO LA LICENCIA CREATIVE COMMONS

Reconocimiento-NoComercial 4.0 Unported.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



“Se permite la generación de obras derivadas siempre que no se haga un uso comercial. Tampoco se puede utilizar la obra original con finalidades comerciales.”

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad

UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE MEDICINA



UNIVERSIDAD DR. JOSÉ
MATÍAS DELGADO
SAN SALVADOR, EL SALVADOR C. A.

**Enterobacterias Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido:
Prevalencia, Multirresistencia y Tratamiento en Hospital Nacional San Rafael**

Tesis presentada para optar al título de:

Doctorado en Medicina

Por:

Gerardo Andrés Boillat Oriani

Carlos Fernando Elías Santos

Oscar Mauricio Escalón González

Asesor:

Dra. Tatiana Guadalupe Ascencio

Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador. 7 de marzo 2017



UNIVERSIDAD DR. JOSÉ
MATÍAS DELGADO
SAN SALVADOR, EL SALVADOR C. A.

Dr. David Escobar Galindo

RECTOR

Dr. José Enrique Sorto Campbell

VICERRECTOR

VICERRECTOR ACADÉMICO

Dr. José Nicolás Astacio

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Dr. Wilfredo Ramírez Peñate

PRESIDENTE COMITÉ EVALUADOR

Dr. Manuel Enrique Bello

COMITÉ EVALUADOR

Dra. Adela Esperanza Bolaños

COMITÉ EVALUADOR

Dra. Tatiana Guadalupe Ascencio

ASESOR

Antiguo Cuscatlán, La Libertad, El Salvador. 7 de marzo 2017

CARTA DE APROBACIÓN (ORDEN DE IMPRIMATUM)

UNIVERSIDAD "DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO"
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DR. LUIS EDMUNDO VASQUEZ

ACTA DE EVALUACIÓN DE DOCUMENTO ESCRITO DE TESIS POR EL JURADO

En la ESCUELA DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD de la UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO a las 17 horas con 30 minutos del día 14 del mes de FEBRERO de 2017 reunidos los suscritos miembros del jurado examinador de la Tesis de Grado titulada:

TEMA:

Enterobacterias Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido: Prevalencia, Multirresistencia y Tratamiento en Hospital Nacional San Rafael

Presentada por el (los) la (s) egresados(as):

1. Gerardo Andres Boillat Oriani
2. Carlos Fernando Elias Santos
3. Oscar Mauricio Escalon Gonzalez

Para optar al Grado de:

DOCTORADO EN MEDICINA

Respectivamente

HACE CONSTAR QUE: Habiendo revisado y evaluado en forma individual su contenido escrito, de conformidad al Art. 41, 42 y 43 del Reglamento de Graduación

ACORDARON DECLARARLA:

- APROBADA SIN OBSERVACIONES
 APROBADA CON OBSERVACIONES
 REPROBADA

No habiendo más que hacer constar, damos por terminada la presente acta que firmamos, entregando el original a la Secretaría de esta Unidad Académica.


Dr. Wilfredo Ramirez Peñate
Presidente


Dra. Adela Bolaños Martínez
Primer Vocal


Dr. Manuel Enrique Bello
Segundo Vocal



Contenido

Agradecimientos	v
Resumen	vi
Introducción	vii
Capítulo I	1
Planteamiento del Problema.....	1
Justificación	2
Objetivos	3
Objetivo General:	3
Objetivos Específicos:	3
Capítulo II	4
Marco Teórico.....	4
Enterobacterias	4
Betalactamasas de Espectro Extendido.....	7
Epidemiología	10
Factores de Riesgo	11
Métodos para la Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido	12
Antibioticoterapia.....	16
Capítulo III	19
Metodología.....	19
Tipo de Estudio	19

Población	19
Muestra	19
Recolección de Datos	23
Análisis de Datos.....	24
Consideraciones Éticas.....	24
Capítulo IV	25
Resultados.....	25
Prevalencia de EP-BLEE	25
Características Demográficas	25
Servicio de Hospitalización	26
Factores de Riesgo	27
Especímenes Clínicos.....	32
Diagnósticos.....	33
Patrón de Sensibilidad	34
Antibioticoterapia.....	35
Discusión.....	37
Conclusiones	40
Limitantes del Estudio	42
Recomendaciones.....	42
Anexos.....	45
Formulario de Recolección de Datos.....	45

Carta de Aprobación del CODEIC.....	46
Consentimiento Informado.....	47
Hoja Informativa.....	48
Reporte Bacteriológico con más de un aislamiento de EP-BLEE.....	49
Reporte Bacteriológico con microorganismos productores de BLEE no reconocidos por VITEK 2 Compact.....	50
Abreviaciones	54
Glosario	56
Referencias Bibliográficas	57

Agradecimientos

Expresamos nuestra gratitud:

A Dios, por habernos acompañado y guiado a lo largo de nuestra carrera, por ser nuestra fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarnos una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A nuestros padres, por todo el apoyo brindado a lo largo de nuestras vidas y por habernos dado la oportunidad de tener una excelente educación.

A nuestros hermanos, por su atención, cariño y apoyo en todo momento.

A nuestra asesora, Dra. Tatiana Guadalupe Ascencio, por la confianza, inspiración y dedicación de su tiempo en la elaboración de este trabajo.

A nuestros profesores y tutores de la escuela de medicina, por haber compartido con nosotros sus conocimientos y amistad.

A nuestros amigos, por todos los momentos que pasamos juntos y la confianza que en nosotros han depositado.

A Alfredo Castillo, nuestro compañero y amigo, por su ayuda, innovación y apoyo en nuestro trabajo.

Al Hospital Nacional San Rafael, por permitirnos realizar nuestro trabajo dentro de sus instalaciones.

Al personal del laboratorio de bacteriología del Hospital Nacional San Rafael: Lic. Zenia Cruz y Lic. Patricia Guzmán, por proporcionar los reportes de cultivos utilizados para la elaboración de la tesis.

Y a todas las demás personas que han dejado una huella en nuestras vidas.

Resumen

Introducción. Las enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (EP-BLEE) son patógenos Gram-negativos causantes de infecciones nosocomiales así como de resistencia antibiótica.

Objetivo. Determinar la prevalencia de EP-BLEE, su patrón de sensibilidad y la antibioticoterapia utilizada en pacientes ingresados al Hospital Nacional San Rafael durante el período de Julio a Octubre de 2016.

Metodología. Estudio observacional, descriptivo, de corte transversal, con un muestreo no probabilístico por conveniencia. Se obtuvo una muestra de 1,322 cultivos reportados por VITEK 2 Compact en el laboratorio de bacteriología del hospital. Se analizaron los datos por medio de estadística descriptiva, en Microsoft Excel, versión 2013.

Resultados. La prevalencia fue del 14%. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* fueron las EP-BLEE más prevalentes; sin embargo, se constataron otros microorganismos productores de BLEE no reconocidos por VITEK 2 Compact. Edades en los extremos de la vida, sexo femenino, la presencia de comorbilidades, cateterismo y la hospitalización prolongada, fueron los factores de riesgo más importantes. Se observaron situaciones de portadores de EP-BLEE con alta hospitalaria previo al reporte de laboratorio. La mayoría de cepas se aislaron de orina. Infección del tracto urinario fue el principal diagnóstico. Las EP-BLEE presentaron altas tasas de resistencia hacia los antibióticos utilizados por los médicos al momento de referencia.

Conclusión. Los métodos actuales de detección y tratamiento tienen deficiencias importantes. La resistencia antibiótica entre las EP-BLEE deja pocas alternativas terapéuticas disponibles. Los carbapenémicos son los antibióticos de elección para el tratamiento de dichas infecciones. Se necesitan implementar programas de detección, así como medidas costo-efectivas que promuevan las técnicas asépticas; y la instalación de un comité de uso de antibióticos.

Introducción

Las enterobacterias son bacilos Gram-negativos y causa frecuente de infecciones nosocomiales y asociadas a la comunidad¹. La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) ha identificado seis patógenos peligrosos de máxima prioridad (*Enterobacteriaceae* productor de betalactamasas de espectro extendido [EP-BLEE], *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y *Aspergillus sp.*), donde tres de los seis agentes son patógenos Gram-negativos multirresistentes con una limitada elección de antibióticos para un tratamiento efectivo y seguro por estas infecciones². Brotes por este tipo de bacterias comparten características comunes: tiempo necesario para identificar el problema, dificultades para identificar la fuente, tiempo para poner en práctica medidas de control de infecciones y la erradicación de la bacteria³.

Es importante analizar que las infecciones por EP-BLEE son por lo general adquiridas en el hospital, especialmente en las unidades de cuidados intensivos (UCI)⁴, y ocurren clásicamente en individuos con factores relacionados a los servicios de salud, entre estos se encuentran: hospitalización previa, cirugía reciente, uso irracional de antibióticos, inmunodeficiencia (tratamiento con esteroides, quimioterapia anticancerígena, trasplante de médula ósea, uso de inmunomoduladores), presencia de comorbilidades (diabetes mellitus, falla renal, hemodiálisis), cateterismo, intubación y hospitalización prolongada, así como la proximidad al personal médico u otros pacientes colonizados o infectados con EP-BLEE, siendo la vía fecal-oral la principal ruta de transmisión en el ambiente hospitalario, ya sea directa o indirectamente a través del contacto estrecho de las manos, sobre todo con el personal de salud^{5, 6, 7}.

Dado el nicho ecológico de las enterobacterias en el tracto gastrointestinal, las infecciones comunes con microorganismos productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

incluyen infecciones del tracto urinario (ITU), peritonitis, colangitis y abscesos intraabdominales⁴. Sin embargo, dada la propensión de los bacilos Gram-negativos para colonizar el tracto respiratorio superior y la piel de los pacientes hospitalizados gravemente enfermos, los microorganismos productores de BLEE son también una causa común de neumonía nosocomial y bacteriemia relacionada a línea venosa central⁴.

La producción de BLEE constituye el principal mecanismo de resistencia en enterobacterias frente a antibióticos betalactámicos⁸, es por esto que los laboratorios de microbiología disponen de sistemas manuales y automatizados para identificar este fenómeno de resistencia⁹. La última versión de los lineamientos para el reporte de susceptibilidad por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) ya no respalda la comprobación fenotípica de cepas productoras de BLEE¹⁰. Los nuevos lineamientos recomiendan el uso de los puntos de quiebre más bajos de concentración mínima inhibitoria (CMI) para dirigir la selección de antibióticos¹⁰.

Las EP-BLEE confieren resistencia a penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos, pero no a cefamicinas o carbapenémicos¹¹. Estos microorganismos también son con frecuencia resistentes a los aminoglucósidos, cotrimoxazol y quinolonas¹. Sin embargo, éstas son inactivadas por inhibidores de betalactamasas (IBL) disponibles en el mercado (ácido clavulánico, tazobactam, y sulbactam)¹¹. Actualmente, los carbapenémicos son ampliamente considerados como los fármacos de elección para el tratamiento de infecciones graves causadas por EP-BLEE¹².

Planteamiento del Problema

Las EP-BLEE son reconocidas como una de las principales bacterias patógenas en humanos¹. Estas infecciones presentan altas tasas de morbimortalidad (Schoevaerdt et al.: estancia hospitalaria promedio de 23 días y tasa general de mortalidad del 13%) a causa de problemas clínicos y epidemiológicos¹³, así como de resistencia antimicrobiana⁶.

Pacientes colonizados con EP-BLEE no solo son fuente potencial de infección para otros, sino también son razón para el uso complejo de antibióticos específicos de alto costo¹⁴. Mauldin et al. menciona que tener una infección causada por un patógeno Gram-negativo resistente se asocia con un costo hospitalario total más alto (29,3%) para cada admisión y un aumento en la duración de la estancia (23,8%) que en pacientes con infecciones causadas por patógenos no resistentes¹⁵.

La falta de detección de EP-BLEE trae graves consecuencias a un centro hospitalario, como el mal uso de múltiples antibióticos que aumentan el riesgo de toxicidad y un mayor riesgo de infección a otros pacientes con cepas resistentes¹⁰.

A pesar de que numerosos factores de riesgo se han descrito en una variedad de entornos geográficos y epidemiológicos^{5, 13}, ningún estudio ha evaluado los factores específicos al ámbito hospitalario de El Salvador. La identificación de factores de riesgo relevantes a nivel local para este tipo de infecciones es esencial, tanto para guiar la terapia empírica como para diseñar estrategias preventivas racionales¹⁶.

Por lo tanto, en base a lo anteriormente descrito, surge la siguiente interrogante: ¿Cuál es la prevalencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido, su patrón de sensibilidad y la antibioticoterapia utilizada en pacientes ingresados al Hospital Nacional San Rafael (HNSR) durante el período de Julio a Octubre de 2016?

Justificación

En los últimos años ha habido un aumento en la prevalencia de infecciones graves con bacilos Gram-negativos resistentes a los antimicrobianos¹⁷. El Programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY (1997-1999) muestra una mayor prevalencia de enterobacterias en América Latina (32%) en comparación con Europa (29,3%), la Región del Pacífico Occidental (28,2%), Estados Unidos (25,2%) y Canadá (24%)¹⁸. Sin embargo, esta publicación no permite definir la variación entre los diferentes países de América Latina; igualmente, este estudio multinacional no incluyó centros de El Salvador, y como demuestran los estudios, infecciones por EP-BLEE dan lugar a estancias prolongadas en el hospital y a un aumento en los costos de tratamiento (Mauldin et tal.: costo total medio \$38,121 más alto en pacientes infectados con bacterias resistentes que en infectados con bacterias no resistentes) si no se atienden adecuadamente¹⁵.

En El Salvador no existen datos públicos de la cantidad de personas infectadas con microorganismos resistentes ni cuantas de estas infecciones ocurren en los centros de salud. Los datos públicos más recientes de El Salvador referentes a la epidemiología y detección de enterobacterias reportados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) corresponden al año 2010, siendo algunas productoras de BLEE potencialmente emergentes en nuestro país¹⁹.

Debido a la creciente prevalencia de bacterias Gram-negativas productoras de BLEE y la falta de datos epidemiológicos locales actualizados, este estudio pretende determinar la prevalencia de EP-BLEE y su patrón de sensibilidad en el HNSR, así como identificar los factores de riesgo de infección por estos microorganismos y la sensibilidad de los antibióticos utilizados por los médicos en los pacientes, con el fin de contribuir a establecer un tratamiento eficaz de elección y medidas de prevención y control adecuadas.

Objetivos

Objetivo General:

Determinar la prevalencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido, su patrón de sensibilidad y la antibioticoterapia utilizada en pacientes ingresados al Hospital Nacional San Rafael durante el período de Julio a Octubre de 2016.

Objetivos Específicos:

- Identificar las principales EP-BLEE y su patrón de sensibilidad.
- Identificar las características demográficas, servicio de hospitalización, factores de riesgo, especímenes clínicos y diagnósticos en pacientes con reporte de EP-BLEE.
- Determinar la sensibilidad de los antibióticos utilizados por los médicos en pacientes con reporte de EP-BLEE.

Marco Teórico

Enterobacterias

Taxonómicamente, la familia de bacterias *Enterobacteriaceae* cuenta actualmente con 53 géneros (y más de 170 especies nombradas) que incluyen: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*, entre otros²⁰. De estos, se conocen 26 géneros asociados con las infecciones en los seres humanos²⁰.

La nomenclatura de las *Enterobacteriaceae* es complicada y se ha basado en características bioquímicas y antigénicas²⁰. La aplicación de nuevas tecnologías, como la hibridación del ADN, ha dado lugar a numerosos cambios en la clasificación de las enterobacterias^{20, 21}. Muchos de los nuevos géneros y especies han sido descubiertos, algunas especies poco comunes y raras, y muchos también han sido reclasificados a otros géneros^{20, 22}.

Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son pequeños bacilos Gram-negativos no productores de esporas²⁰. Algunos géneros son móviles por medio de flagelos peritricosos, excepto las especies de *Shigella* y *Klebsiella*, que no tienen movilidad²⁰. Ellos son anaerobios facultativos y la mayoría de las especies crecen bien a 37°C, aunque algunas especies crecen mejor a 25-30°C²⁰. Crecen bien en medios de peptona y extracto de carne²⁰. Algunas cepas crecen en D-glucosa como la única fuente de carbono y energía, pero otras cepas requieren vitaminas y/o aminoácidos²⁰. El ácido se produce durante la fermentación de D-glucosa y otros carbohidratos^{20, 23}.

Ellos son oxidasa negativa y las reacciones de catalasa varían entre *Enterobacteriaceae*²⁰. Los nitratos se reducen a nitritos²². Se distribuyen en todo el mundo y se pueden encontrar en el suelo, el agua, las plantas, los animales y los seres humanos²⁰.

En los laboratorios de microbiología clínica, es habitual intentar la identificación de miembros de la familia *Enterobacteriaceae* mediante el uso de pruebas bioquímicas²⁰. El nivel de identificación depende del sitio de la infección, el estado inmune del huésped y la necesidad de la vigilancia epidemiológica²⁰.

La identificación de *Enterobacteriaceae* se puede simplificar aprovechando el hecho de que tres especies comprenden el 80 a 95% de todos los aislamientos en el entorno clínico²⁰. Estos son *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*^{20, 21}. Las otras especies se pueden identificar fácilmente mediante pruebas bioquímicas²⁰.

Algunos géneros de importancia médica en la familia *Enterobacteriaceae* son:

Enterobacter: Hay 26 especies y dos subespecies²⁰. Sólo 10 han sido aislados de material clínico²⁰. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza²⁰. Se encuentran en los productos del suelo, agua, leche, y en los intestinos de los animales como en humanos²⁰.

Escherichia: Hay cinco especies y todos son conocidos por causar enfermedades humanas²⁰. Ellos son capaces de crecer en condiciones aeróbicas y anaeróbicas²⁰. El más comúnmente aislado es *Escherichia coli*, que contiene numerosos serotipos, algunos de los cuales están asociados con enfermedades específicas²⁰. Un número de cepas de *E. coli* puede producir enterotoxinas u otros factores de virulencia, incluyendo las asociadas con la invasividad²⁰.

Klebsiella: El género contiene seis especies y tres subespecies²⁰. Hay cuatro especies relacionadas con los seres humanos, que incluyen: *K. pneumoniae* subespecies *pneumoniae*, *ozaenae*, y *rhinoscleromatis*; *K. oxytoca*; *K. granulomatis* y *K. variicola*²⁰. El género se compone de más de 77 antígenos capsulares (antígenos K), dando lugar a diferentes serogrupos²⁰. Estas cápsulas de polisacárido bien desarrolladas dan a las colonias su aspecto mucoso característico²⁰. Todas las cepas crecen fácilmente en medios ordinarios²⁰. Pueden producir bacteriemia e infecciones hepáticas, y se han aislado a partir de una serie de infecciones

inusuales, incluyendo la endocarditis, absceso mediastinal primario, peritonitis, colecistitis aguda, mionecrosis crepitantes, piomiositis, fascitis necrotizante, absceso del músculo psoas, infecciones del espacio fascial de la cabeza y el cuello, y artritis séptica^{20, 24}.

Morganella: El género contiene dos especies y sólo uno es conocido por causar infecciones en los seres humanos: *M. morgani*²⁰. *M. morganii* se divide en dos subespecies en base a sus habilidades para fermentar trehalosa²⁰. Se han aislado de especímenes clínicos humanos (heces, heridas, esputo, ojo, bilis, úlcera gástrica, orina)²⁰.

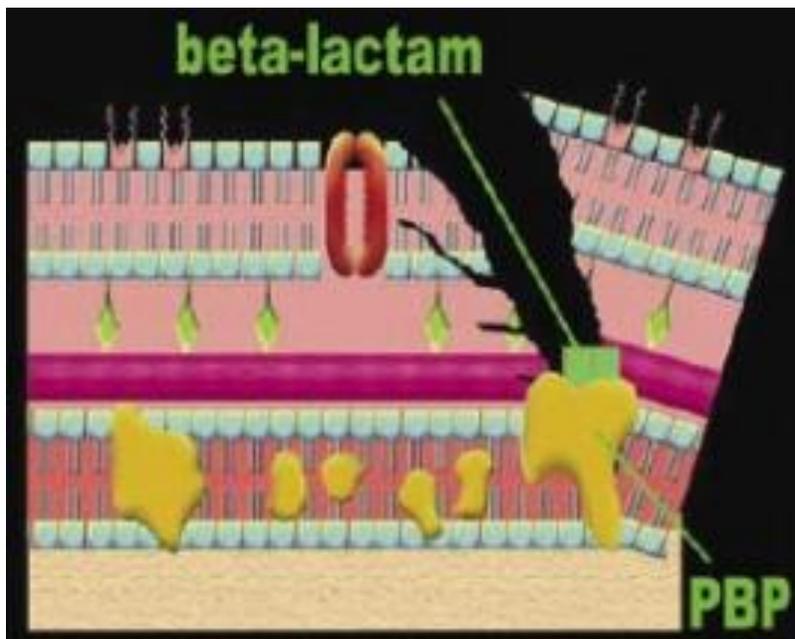
Proteus: Hay cuatro especies, de los cuales tres causan enfermedad²⁰. Ya que pertenece a la familia de *Enterobacteriaceae*, características generales se aplican en este género²⁰. Son resistentes a la polimixina B y colistina²⁰. Han sido aislados de heces humanas, orina, heridas en abdomen, cuello, ingle y cadera, conjuntivas infectadas, decúbito sacra, y esputo^{20, 25}.

Salmonella: En este momento hay 2 especies y 6 subespecies válidamente publicadas²⁶. Estas son *Salmonella bongori*, *Salmonella entérica* y sus subespecies²⁶. Todos los nombres válidamente publicados pueden ser utilizados por los bacteriólogos²⁶. Estos incluyen *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Typhi y *Salmonella* Typhimurium (a pesar de que éstos han sido clasificados como serotipos)²⁶. Se identifican con una combinación de pruebas serológicas y bioquímicas²⁶. Todos los serotipos de *Salmonella* se consideran potencialmente patógenos²⁶. Algunos serotipos son específicos del huésped pero la mayoría pueden afectar a diferentes huéspedes²⁶. *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* son los dos serotipos predominantes de salmonelosis transmitidos de los animales a los seres humanos en la mayoría de lugares del mundo²⁶. *S. Typhi* y *S. Paratyphi* A, B y C son las causas más comunes de fiebre entérica en los seres humanos²⁶. Las especies de *Salmonella* se encuentran en las heces, sangre, bilis, orina, alimentos y materias ambientales²⁶.

Betalactamasas de Espectro Extendido

Los betalactámicos son antibióticos de acción bactericida que actúan sobre la fase final de síntesis del peptidoglicano^{27, 28}. Actúan como sustratos competitivos de distintas enzimas participantes en la síntesis de membrana, esencialmente de las transpeptidasas denominadas proteínas fijadoras de penicilina (PBP), ya que presentan una similitud estructural con el extremo D-alanina-D-alanina del pentapéptido que enlaza las cadenas de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina del peptidoglicano^{27, 28}. En presencia de antibiótico, las transpeptidasas hidrolizan el enlace amida del anillo betalactámico y se forma un éster estable entre el compuesto hidrolizado y un grupo hidroxilo de la serina del sitio activo de la enzima^{27, 29}. Con ello se inhibe la transpeptidación, se desestabiliza la pared celular y finalmente se produce la lisis bacteriana mediada por autolisinas^{27, 28} (figura 1).

Figura 1. Efecto de los Betalactámicos sobre bacterias Gram-negativas



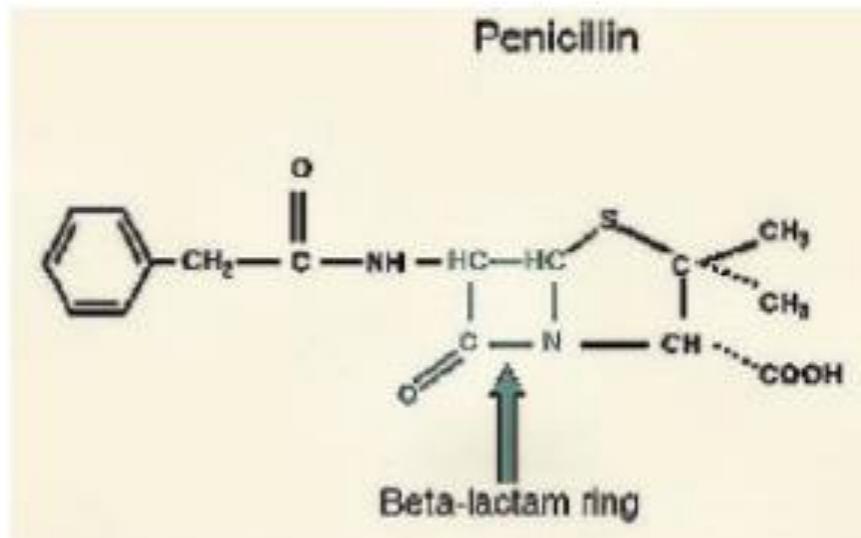
Fuente: Coyle, MB. Manual of Antimicrobial Susceptibility. American Society for Microbiology. 2005; p. 7.

La resistencia a betalactámicos está mediada por varios mecanismos^{6, 27}:

- 1) Alteración de la diana (PBP).
- 2) Disminución de la permeabilidad.
- 3) Mecanismos de eflujo o expulsión del antibiótico.
- 4) Inactivación enzimática por betalactamasas
 - a) Betalactamasas cromosómicas.
 - b) Betalactamasas plasmídicas:
 - i) Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

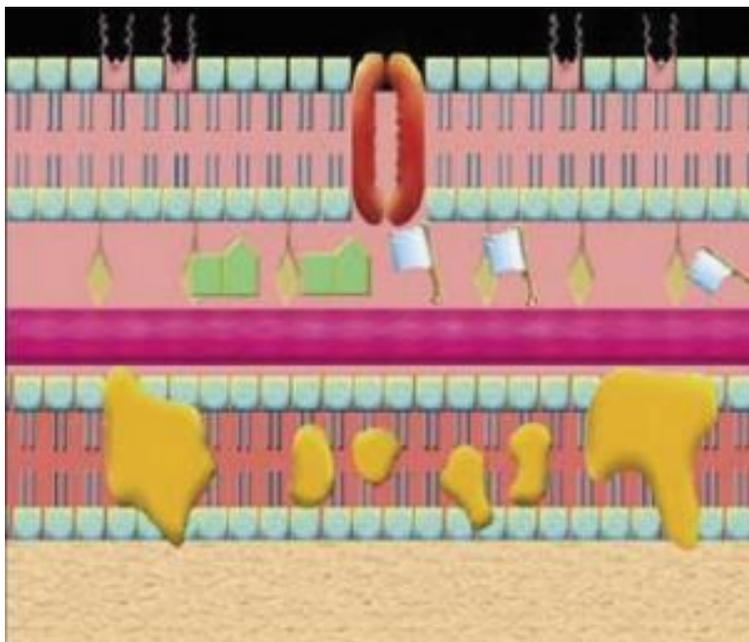
La producción de betalactamasas, enzimas capaces de hidrolizar el enlace amida del anillo betalactámico, sería el principal mecanismo de resistencia en Gram-negativos²⁷ (figura 2). Estas destruyen las moléculas de betalactámico antes de que tengan la oportunidad de alcanzar las proteínas fijadoras de penicilina²⁹ (figura 3).

Figura 2. Molécula de la Penicilina con el anillo Betalactámico reflejado



Fuente: Coyle, MB. Manual of Antimicrobial Susceptibility. American Society for Microbiology. 2005; p. 15.

Figura 3. Betalactamasas (hachas) en microorganismos Gram-negativo



Fuente: Coyle, MB. Manual of Antimicrobial Susceptibility. American Society for Microbiology. 2005; p. 16.

A principios de los ochenta, Shah y Brun-Buisson fueron los primeros en describir en Europa la existencia de betalactamasas de transmisión plasmídica con capacidad para hidrolizar cefalosporinas de tercera generación, cuando sólo habían transcurrido 2 años desde la introducción de los oximino-betalactámicos en el mercado²⁷. Estas enzimas, aisladas inicialmente en cepas bacterianas de la familia *Enterobacteriaceae*, se bautizaron como betalactamasas de espectro extendido y rápidamente se describieron en EEUU y el resto del mundo²⁷. La mayoría de ellas han evolucionado como resultado de mutaciones en el centro activo de las betalactamasas plasmídicas^{6, 27}. Estas modificaciones de la cadena aminoacídica, que surgen como respuesta a la presión ejercida por el amplio uso de las cefalosporinas de tercera generación, les permiten modificar su perfil de sustrato mejorando su capacidad de hidrólisis frente a los betalactámicos^{27, 30}. Actualmente se conocen más de trescientos tipos de BLEE, que se clasifican en base a su secuencia aminoacídica^{27, 31}.

Epidemiología

Aunque hay algunas diferencias entre los países, la mayor prevalencia de EP-BLEE en el mundo se ve principalmente en América Latina. Los datos de 33 centros en América Latina recogidos en el periodo 2004-2007 dentro del Estudio de Evaluación y Vigilancia de Tigeciclina (TEST), mostró BLEE en el 36,7% de los aislamientos de *K. pneumoniae* y en el 20,8% de los aislamientos de *E. coli*¹².

La prevalencia de *E. coli* y *Klebsiella* productores de BLEE en América Latina mostró un aumento en 2008 en comparación con años anteriores⁵. Ghafourian et al. menciona que, en general, el 26% de *E. coli* y el 35% de *K. pneumoniae* en América Latina eran productores de BLEE en 2008⁵.

Datos del Estudio para el Monitoreo de Tendencias de Resistencia Antimicrobiana (SMART) de 2008 a 2010, mostraron que *K. pneumoniae* aislado de infecciones intraabdominales tuvo una mayor tasa de detección de BLEE en América Latina (34,6%) comparado con Europa (19,7%) y Norte América (10%)³².

Para El Salvador, la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana (ReLAVRA) publicada en 2010, reportó *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* como las principales enterobacterias productoras de BLEE¹⁹.

El estudio SENTRY de 2004 documentó un 9% de prevalencia de BLEE en *E. coli* y un sorprendente 34,4%-39,8% en especies de *Klebsiella* en niños sudamericanos¹¹. Mientras, los datos del estudio SMART de 2008 a 2010 mostraron BLEE en el 23% de las infecciones intraabdominales pediátricas de *E. coli*³³.

En el embarazo, patógenos Gram-negativos son la fuente más común de infecciones del tracto urinario, con *Enterobacteriaceae*, en particular *Escherichia coli* y *Klebsiella*, representando el 90% de estas infecciones³⁴. En los últimos años, la prevalencia de estas infecciones

complicadas por bacterias resistentes a los antibióticos ha aumentado significativamente³⁴. En particular, las infecciones con BLEE son una preocupación importante, con algunos estudios epidemiológicos que ilustra un aumento del 300% en las infecciones del tracto urinario complicadas por microorganismos productores de BLEE³⁴.

Factores de Riesgo

Muchos estudios se han realizado con el objetivo de identificar factores de riesgo para colonización e infección con cepas productoras de BLEE. Estos revelan una gran cantidad de resultados conflictivos, especialmente por las diferencias en la población en estudio, el tipo de estudio, los controles, y el tamaño de la muestra³⁵. Sin embargo, algunas generalizaciones se pueden hacer; por ejemplo, los pacientes de alto riesgo contaminados con BLEE son aquellos que tienen enfermedades graves y hospitalización prolongada^{5, 9}. La duración media de la hospitalización antes de la recogida de la cepa positiva para producción de BLEE oscila entre 11 a 67 días⁵. El uso de grandes cantidades de antibióticos es también un factor de riesgo para la producción de BLEE^{5, 9, 35}. El uso de diferentes clases de antibióticos también ha dado lugar a infecciones debidas a cepas BLEE positivas debido al fenómeno de resistencia cruzada (transposones), estos incluyen las quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas, cotrimoxazol y metronidazol^{5, 6}. A pesar que las cepas productoras de BLEE confieren resistencia a los betalactámicos, no se ha observado resistencia con el uso de combinaciones de betalactámicos/inhibidor de betalactamasa, cefamicinas o carbapenémicos^{5, 6}. La transmisión de estas bacterias generalmente se produce por vía fecal-oral, ya sea directa o indirectamente a través del contacto estrecho de las manos, sobre todo con el personal de salud; y como elementos implicados: termómetros, geles empleados en ecografías, sondas de oxigenoterapia y jabón líquido, todo facilitado por condiciones de hacinamiento^{5, 6}.

Históricamente, *K. pneumoniae* y el internamiento en la UCI están asociados con muchos de los factores de riesgo, estos incluyen varios dispositivos médicos, tales como: líneas de acceso centrales y arteriales, sondas nasogástricas, endotraqueales y urinarias, entre otras intervenciones^{5, 6}. Otros factores de riesgo mencionados en la literatura son las estancias hospitalarias prolongadas, permanencia en hogares de ancianos o centros de atención a largo plazo, condiciones médicas subyacentes, vejez, sexo femenino, cirugía reciente, hemodiálisis, y el uso de antibióticos en los 3 meses anteriores^{3, 5, 9}.

En niños, los primeros informes sobre los factores de riesgo de infección o colonización por bacterias productoras de BLEE eran de unidades de cuidados intensivos pediátricos y las unidades de cuidados intensivos neonatales (UCIN)¹¹. Los factores de riesgo incluyen prematuridad, bajo peso al nacer, ventilación mecánica prolongada, la duración de la estancia hospitalaria, dispositivos invasivos, y el uso de antibióticos^{3, 11}. En otro estudio con recién nacidos de muy bajo peso al nacer, la prevalencia de colonización por BLEE fue 6 veces mayor para los bebés nacidos de madres colonizadas por *E. coli* productores de BLEE frente a las madres no colonizadas y se observaron cinco neonatos (incluyendo 1 juego de trillizos) que compartían cepas productoras de BLEE idénticas a sus madres, lo que sugiere que la transmisión materno-infantil puede ser un factor de riesgo no reconocido para la colonización en los recién nacidos¹¹.

Métodos para la Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido

La CMI es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de la incubación durante la noche³⁶. La CMI se considera generalmente como la medida de laboratorio más básica de la actividad de un agente antimicrobiano contra un organismo³⁶. Los puntos de corte de la CMI se establecen tras el

análisis de la distribución de las CMI, las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas del agente antimicrobiano (básicamente, cómo el agente antimicrobiano se distribuye y actúa en el paciente) y los datos clínicos que correlacionan los resultados individuales de la CMI con los resultados del paciente³⁶. Utilizando los criterios interpretativos del CLSI, los resultados se interpretan como susceptibles, intermedios o resistentes³⁶ (figura 4).

Figura 4. Estándares de Interpretación del Diámetro de Zona y Concentración Mínima Inhibitoria para *Enterobacteriaceae*

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria (µg/mL)		
			S	I	R	S	I	R
PENICILLINS								
A	Ampicillin	10 µg	≥17	14-16	≤13	≤8	16	≥32
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS								
B	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≥18	14-17	≤13	≤8/4	16/8	≥32/16
B	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥15	12-14	≤11	≤8/4	16/8	≥32/16
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥21	18-20	≤17	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV)								
A	Cefazolin	30 µg	≥23	20-22	≤19	≤2	4	≥8
B	Cefepime	30 µg	≥18	15-17	≤14	≤8	16	≥32
B	Cefotaxime or ceftriaxone	30 µg	≥26	23-25	≤22	≤1	2	≥4
B		30 µg	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
MONOBACTAMS								
C	Aztreonam	30 µg	≥21	18-20	≤17	≤4	8	≥16
CARBAPENEMS								
B	Ertapenem	10 µg	≥22	19-21	≤18	≤0.5	1	≥2
B	Imipenem	10 µg	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
B	Meropenem	10 µg	≥23	20-22	≤19	≤1	2	≥4
AMINOGLYCOSIDES								
A	Gentamicin	10 µg	≥15	13-14	≤12	≤4	8	≥16
B	Amikacin	30 µg	≥17	15-16	≤14	≤16	32	≥64
TETRACYCLINES								
C	Tetracycline	30 µg	≥15	12-14	≤11	≤4	8	≥16
O	Doxycycline	30 µg	≥14	11-13	≤10	≤4	8	≥16
FLUOROQUINOLONES								
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥21	16-20	≤15	≤1	2	≥4
B	Levofloxacin	5 µg	≥17	14-16	≤13	≤2	4	≥8
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥31	21-30	≤20	≤0.06	0.12-0.5	≥1
B	Levofloxacin	-	-	-	-	≤0.12	0.25-1	≥2
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥16	11-15	≤10	≤2/38	-	≥4/76
PHENICOLS								
C	Chloramphenicol	30 µg	≥18	13-17	≤12	≤8	16	≥32
NITROFURANS								
U	Nitrofurantoin	300 µg	≥17	15-16	≤14	≤32	64	≥128

Fuente: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. January 2013; 33(1): 45-49.

Las BLEE no siempre incrementan la CMI a niveles caracterizados como resistentes²⁷. La falta de sensibilidad y especificidad de los métodos tradicionales de dilución o difusión en disco ha llevado al desarrollo de diferentes métodos basados en la observación de que en las pruebas de microbiología clínica, ceftazidima o cefotaxima, en combinación con ácido clavulánico, reducen el nivel de resistencia a estas cefalosporinas²⁷. Las pruebas utilizadas son las siguientes: la técnica de aproximación de doble disco que utiliza amoxicilina-clavulánico, las tiras de E-test de BLEE que utilizan cefepima / cefepima-clavulánico, cefotaxima / cefotaxima-clavulánico y especialmente cefepima / cefepima-clavulánico, y por último, la prueba de susceptibilidad automatizada que utiliza ceftazidima o cefotaxima solas o en combinación con ácido clavulánico²⁷.

El CLSI recomienda iniciar el estudio mediante la prueba de control de crecimiento en un medio que contiene 1 mg/L de 1 de 5 antibióticos betalactámicos de amplio espectro^{10, 27}. Un resultado positivo permite sospechar la presencia de BLEE^{10, 27} (figura 5). Esta sospecha inicial debe confirmarse con la determinación de la CMI de ceftazidima o cefotaxima en presencia y en ausencia de ácido clavulánico^{10, 6, 27}. Para concluir, el método de aproximación de doble disco y la dilución en medio líquido para calcular la CMI serían los más rentables y sencillos^{10, 27}.

Figura 5. Recomendaciones del CLSI para el tamizaje y detección de BLEE

CLSI Version	Drug	MIC Breakpoint for Susceptibility, mg/L	ESBL Phenotypic Testing Recommendations
Pre 2010	Ceftriaxone	≤8	For MIC ≥ 1 mg/L, perform ESBL phenotypic test. If test result is negative, report sensitivities according to MIC. If test result is positive, report all cephalosporins, aztreonam, and penicillins (but not β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations) as resistant regardless of MIC.
2010 and later	Ceftriaxone	≤1	Do not perform ESBL phenotypic testing for purposes of reporting susceptibility. Report sensitivities according to MIC.

CLSI, Clinical Laboratory Standards Institute; ESBL, extended-spectrum β-lactamase; MIC, minimum inhibitory concentration

Fuente: Curello et al. Beyond Susceptible and Resistant, Part II: Treatment of Infections Due to Gram-Negative Organisms Producing Extended-Spectrum β-Lactamases. *Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*. 2014; 19(3): 158.

El instrumento automatizado VITEK 2 Compact y software de VITEK 2 PC ofrece la capacidad para ayudar a mejorar el éxito terapéutico y la evolución del paciente a través de una fiable identificación microbiana y pruebas de sensibilidad a los antibióticos³⁷. El instrumento permite mejorar la eficiencia del laboratorio con una reducción del tiempo en manualidades y capacidades de informes rápidos³⁸ (figura 6).

Figura 6. VITEK 2 Compact y VITEK 2 PC + Software



Fuente: VITEK® 2 ID/AST Cards. bioMérieux. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/73600761/VITEK2-Cards>

Diseñado para proporcionar resultados de identificación microbiana / pruebas de sensibilidad a los antibióticos (ID / AST) en tan sólo 5 a 8 horas, VITEK 2 Compact funciona con tarjetas VITEK 2 ID / AST listas para su uso económico³⁹.

La seguridad se optimiza con una preparación mínima de reactivos y reduce la manipulación en un sistema cerrado, desechable. El VITEK 2 Compact es fácil de usar:

1. Después del aislamiento del principal microorganismo, hay una manipulación mínima con un simple inóculo estandarizado.
2. Se coloca el inóculo dentro del casete VITEK 2 en el Smart Carrier Station.
3. La tarjeta de VITEK 2 y la muestra están conectadas a través de códigos de barras.

4. Una vez que se carga el casete, el instrumento se encarga de todos los pasos subsiguientes para la incubación y la lectura.
5. Resultados en un vistazo de una amplia gama de microorganismos.

Antibioticoterapia

Las opciones de tratamiento en las infecciones causadas por microorganismos Gram-negativos productores de BLEE son limitadas, ya que presentan resistencia a cefalosporinas (incluidas tercera y cuarta generación excepto cefamicinas), penicilinas de amplio espectro y aztreonam, y además, con frecuencia, los plásmidos que codifican esta resistencia portan genes de resistencia a otros antibióticos, y el fenómeno de resistencia cruzada es muy frecuente^{27, 40}.

Hasta el momento solo los carbapenémicos han demostrado de forma consistente su eficacia frente a infecciones por cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, con dudas respecto a la utilización de cefamicinas, como la cefoxitina, y las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas, como piperacilina-tazobactam^{10, 27}.

A las escasas opciones terapéuticas se suma la obtención de resultados discordantes en cuanto a respuesta clínica en los diferentes estudios^{27, 41}. De una parte hay estudios que muestran fracaso terapéutico aun cuando la infección parece ser susceptible al antibiótico utilizado^{27, 41}. Mientras, otros publican datos de buena evolución clínica con el uso de cefalosporinas en el tratamiento de infecciones, especialmente de foco urinario, causadas por bacterias productoras de BLEE que por definición son resistentes a estos antibióticos^{27, 41}.

La tasa de fracasos terapéuticos empleando antibióticos activos *in vitro* en el contexto de estas infecciones, puede superar el 50%²⁷. Este comportamiento se ha puesto en relación con el efecto inóculo, por el cual las CMI de los antimicrobianos pueden aumentar de 10 a 100 veces

en función de la carga bacteriana, dando lugar a fenómenos de resistencia *in vivo* a pesar de que los resultados *in vitro* indiquen que es un aislamiento sensible o de resistencia intermedia²⁷. Este fenómeno también se ha observado con las cefalosporinas de cuarta generación, a pesar de ser estos compuestos estructuralmente más estables frente a la hidrólisis por betalactamasas^{10, 27}. Sin embargo, recientemente otros autores argumentan que el efecto inóculo podría ser más bien un artefacto *in vitro* que carecería de importancia clínica²⁷. La explicación microbiológica de esta discordancia estriba en la diferente capacidad hidrolítica sobre los oximino-betalactámicos según el tipo BLEE estudiada²⁷. Si tenemos en cuenta todos los tipos de BLEE descritos y que su clasificación molecular sistemática no tiene cabida en la práctica clínica habitual, parece lógica la recomendación del CLSI de investigar la producción de BLEE en cualquier aislamiento de *Klebsiella spp* o *E. coli* cuyas CMI de aztreonam, ceftazidima, ceftriaxona o cefotaxima sea igual o superior a 2 mg/L, informándola como resistente a todos los betalactámicos, de manera que el clínico pueda tomar la decisión de iniciar tratamiento con carbapenémicos cuando se trate de una infección grave o, si se comprueba la sensibilidad, con un aminoglucósido o fluorquinolona en infecciones leves o sin diseminación hematógena^{10, 27}. Algunos autores defienden esta estrategia argumentando que en caso de no ser una situación de brote epidémico o de riesgo vital es necesario preservar el valor terapéutico de los carbapenémicos, por lo que, basándose en los patrones de sensibilidad de cada institución, sería preferible la utilización de piperacilina-tazobactam, una fluoroquinolona o un aminoglucósido^{27, 42}.

Ya sea a través de informes microbiológicos selectivos o por consulta con expertos, los médicos podrían ser guiados a seleccionar terapias definitivas de acuerdo con el estado clínico del paciente y el lugar de la infección¹⁰ (figura 7).

Figura 7. Consideraciones para el tratamiento definitivo de infecciones confirmadas o sugestivas por *Escherichia coli* y *Klebsiella* productoras de BLEE.

Patient Characteristics	Infection Site	First-Line Therapy*	Alternative Therapy*
Hospitalized			
Septic shock or immunocompromised	Any	Carbapenem	Fluoroquinolone (for severe β -lactam allergy)
Clinically stable, non-immunocompromised	Pneumonia, intra-abdominal infection without adequate source control, pyelonephritis, intravascular infection	Carbapenem	Piperacillin/tazobactam,† fluoroquinolone
	Intra-abdominal infection with good source control, catheter-related infection with removal of catheter, skin/soft tissue infection with drainage, lower urinary tract infection	Piperacillin-tazobactam,† carbapenems, fluoroquinolone	Cefepime,‡ aminoglycoside (lower urinary tract infection)
Outpatient	Lower urinary tract	Fluoroquinolone, TMP/SMX, nitrofurantoin, fosfomicin	Amoxicillin/clavulanate§

ESBL, extended-spectrum β -lactamase; TMP/SMX, trimethoprim/sulfamethoxazole

* Assumes drugs are documented as susceptible on testing

† Consider avoiding for MIC of 16 mg/L

‡ Consider avoiding for MIC of 8 mg/L

§ Consider using a formulation with a greater amount of clavulanic acid (e.g., 250/62.5 mg/5 mL suspension instead of 600/42.9 mg/5 mL)

Fuente: Curello et al. Beyond Susceptible and Resistant, Part II: Treatment of Infections Due to Gram-Negative Organisms Producing Extended-Spectrum β -Lactamases. *Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*. 2014; 19(3): 161.

Metodología

Tipo de Estudio

Observacional, descriptivo, de corte transversal.

Población

Pacientes ingresados en el Hospital Nacional San Rafael con reporte bacteriológico de EP-BLEE en el período comprendido de Julio a Octubre de 2016.

Muestra

Unidad de Análisis

- Reportes bacteriológicos de distintos especímenes clínicos para la identificación de EP-BLEE y su patrón de sensibilidad.
- Expedientes clínicos y entrevistas a pacientes para la obtención de datos demográficos, servicio de hospitalización, factores de riesgo, diagnósticos y antibioticoterapia.

Selección de la Muestra

Muestreo no probabilístico por conveniencia.

Tamaño de la Muestra

No hubo un número limitado de individuos seleccionados para el estudio, se incluyó a todo paciente que cumplió con los criterios de inclusión.

Criterios de Inclusión

- Reporte de cultivo BLEE (+).
- Paciente de cualquier edad y sexo ingresado en los siguientes servicios del HNSR:
 - Medicina Interna (MI), incluida Unidad de Cuidados Intermedios y área de Pie Diabético.
 - Unidad de Cuidados Intensivos (UCI).
 - Unidad de Emergencia, incluida área de Máxima Urgencia.
 - Observación.
 - Cirugía General, incluida Pequeña Cirugía.
 - Sala de Operaciones (SOP).
 - Ortopedia.
 - Pediatría, incluida Cirugía Pediátrica.
 - Neonatología, incluida Unidad de Cuidados Intermedios.
 - Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN).
 - Ginecología.
 - Obstetricia.
 - Partos.
- Aceptar participar en el estudio y firmar el consentimiento informado.

Criterios de Exclusión

- Reportes de cultivo de muestras provenientes de Salud Mental, Radiología, Consulta Externa, Bienestar Magisterial o la Clínica de Atención Integral del Hospital Nacional San Rafael.

- Reportes de cultivo de muestras provenientes de otros sitios fuera del Hospital Nacional San Rafael, como Unidades Comunitarias de Salud Familiar (UCSF), Equipos Comunitarios de Salud Familiar y Especializados (ECOS) o centros privados.

Operacionalización de Variables

Variable	Definición Operacional	Dimensión	Indicador
Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido	Reporte de cultivo de espécimen clínico notificando la presencia de BLEE	Reporte positivo / negativo	Hoja de reporte bacteriológico
Sexo	Características biológicas que definen al espectro humano	Femenino / Masculino	Hoja de identificación del expediente clínico
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un individuo hasta el momento de referencia	Rangos en días / meses / años	Hoja de identificación del expediente clínico
Servicio de hospitalización	Servicio del HNSR donde se encuentra ingresado el paciente al momento de referencia	Área hospitalaria	Hoja de ingreso del expediente clínico

Cirugía reciente	Persona que ha sido intervenida quirúrgicamente en los últimos 6 meses	Si / No	Expediente clínico / Entrevista al paciente
Antibioticoterapia previa	Persona que ha utilizado antibióticos en los últimos 3 meses	Si / No	Expediente clínico / Entrevista al paciente
Comorbilidades	Trastorno que acompaña a una enfermedad primaria	Si / No	Expediente clínico / Entrevista al paciente
Cateterización	Introducción de un catéter, sonda o aguja en el interior de una estructura corporal	Si / No + Sitio del catéter	Expediente clínico
Ventilación asistida	Estrategia terapéutica de reemplazo de la respiración pulmonar espontánea	Si / No + Tipo de ventilación	Expediente clínico
Hospitalización previa	Persona que ha necesitado hospitalización en los últimos 6 meses	Si / No	Expediente clínico / Entrevista al paciente

Estancia hospitalaria	Tiempo que lleva el paciente desde su ingreso hasta el momento de referencia	N° en días	Expediente clínico
Espécimen clínico	Parte de un individuo que se tomó como muestra y reportó BLEE	Tipo de muestra	Hoja de reporte bacteriológico
Diagnóstico	Principal enfermedad por la que está ingresado el paciente	Categoría (aparato / sistema)	Expediente clínico
Patrón de sensibilidad	Interpretación de los distintos antibiogramas según reporte digital de VITEK 2 Compact	Sensible / Resistente / Intermedio	Hoja de reporte bacteriológico
Antibioticoterapia	Antibiótico indicado al momento de referencia según reporte de antibiograma	Sensible / Resistente / Intermedio	Hoja de reporte bacteriológico + expediente clínico

Recolección de Datos

Se utilizó un formulario diseñado por los investigadores para recolectar los datos demográficos, servicio de hospitalización, factores de riesgo y diagnósticos de pacientes colonizados con EP-

BLEE reportadas por el sistema digital VITEK 2 Compact del laboratorio de bacteriología del HNSR, así como los datos del antibiograma de los distintos especímenes clínicos procesados y la terapia antibiótica indicada por los médicos al momento de referencia (anexo 1). Los formularios fueron identificados con un número correlativo y se llenaron con la revisión del expediente clínico y, en algunos casos, una entrevista al paciente.

Análisis de Datos

Para la recopilación de los datos se utilizó una hoja de cálculo del programa Microsoft Excel, versión 2013. El análisis de los datos se realizó por medio de estadística descriptiva, utilizando frecuencia estadística, medidas de tendencia central, como la media aritmética (promedio), y medidas de dispersión, como la desviación estándar.

Consideraciones Éticas

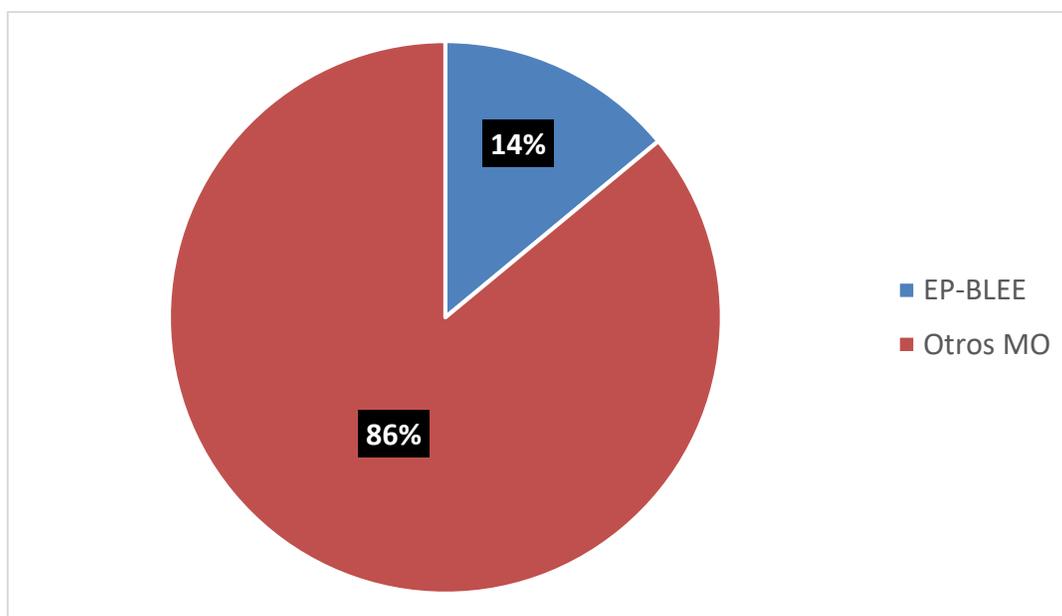
El protocolo de investigación fue presentado y aprobado por el comité de ética del Hospital Nacional San Rafael (anexo 2). A cada paciente se le explicó en qué consistía el estudio y si deseaba participar en él. Los pacientes que aceptaron participar firmaron el documento de Consentimiento Informado, se les entregó una Hoja Informativa, y fueron incluidos en el estudio (anexos 3 y 4). En todo momento se guardó la confidencialidad de los pacientes analizados en el estudio así como la de los médicos tratantes. Tanto los investigadores como los pacientes no recibieron ningún beneficio económico al participar en el estudio ya que los resultados tienen únicamente interés científico para los investigadores y el hospital. Dicha información solamente es utilizada por el equipo de investigadores. La publicación de los resultados obtenidos se realizará solo con la autorización de la dirección del HNSR.

Resultados

Prevalencia de EP-BLEE

1,322 cultivos se reportaron en el HNSR, detectando en 185 (14%) cultivos: 200 EP-BLEE (en ciertas ocasiones se encontró más de un aislamiento por cultivo [anexo 5]) (gráfico 1). Se identificaron 132 (66%) cepas de *E. coli*, 67 (33%) de *K. pneumoniae* y 1 (1%) de *K. oxytoca*, entre las 200 EP-BLEE aisladas.

Gráfico 1. Cultivos reportados por el laboratorio del HNSR



EP-BLEE: enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido, MO: microorganismos.

Características Demográficas

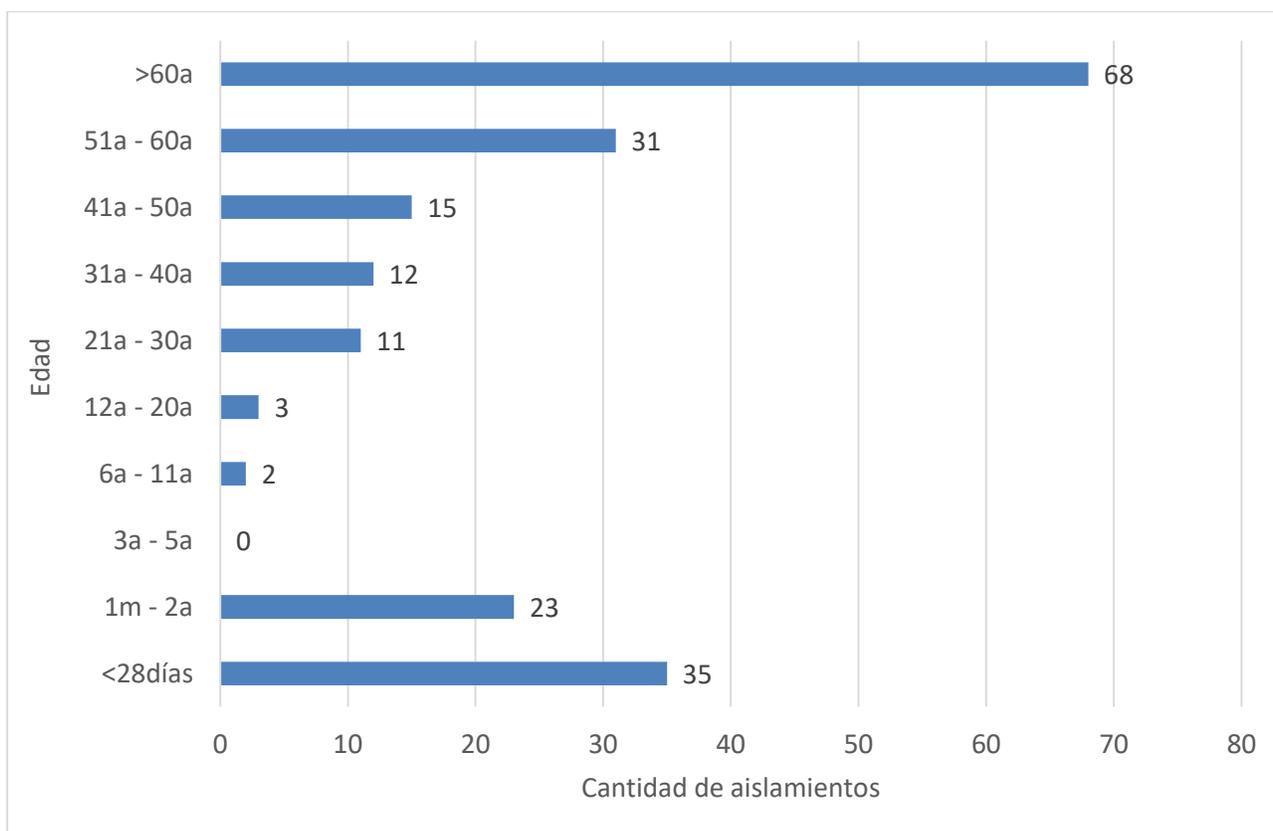
Sexo

Se reportaron 84 (42%) EP-BLEE en pacientes del sexo masculino y 116 (58%) del sexo femenino.

Edad

Los rangos de edad de los pacientes con EP-BLEE variaron entre los menores de 28 días y mayores de 60 años de edad, predominando el grupo de adultos >60 años con 68 (34%) aislamientos reportados, seguido por los neonatos <28 días con 35 (18%) (gráfico 2). La edad media fue de 41,70 ±31,74 años.

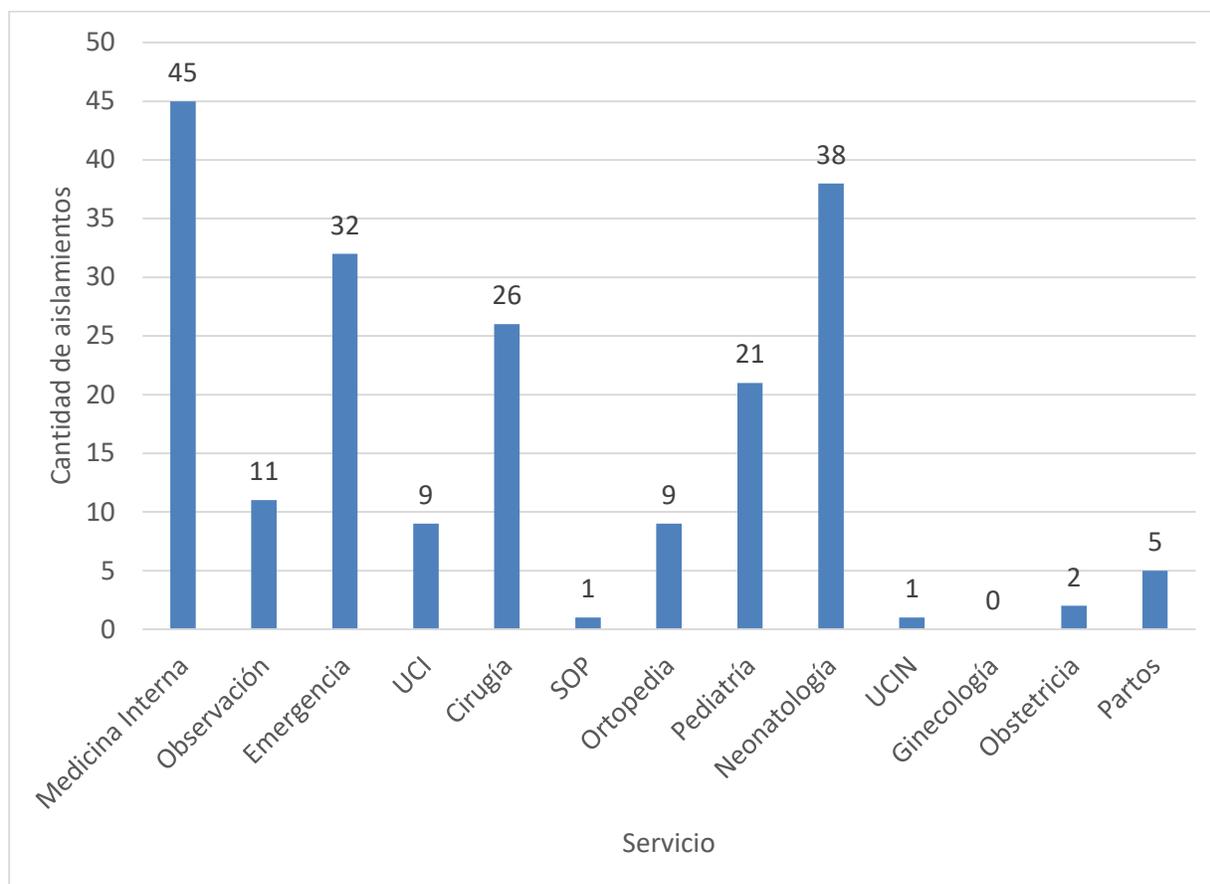
Gráfico 2. Rangos de edades de pacientes con reporte de EP-BLEE



Servicio de Hospitalización

Los servicios de medicina interna y neonatología del HNSR reportaron la mayor cantidad de aislamientos con 45 (23%) y 38 (19%) EP-BLEE, respectivamente (gráfico 3).

Gráfico 3. Servicios del HNSR con reporte de EP-BLEE



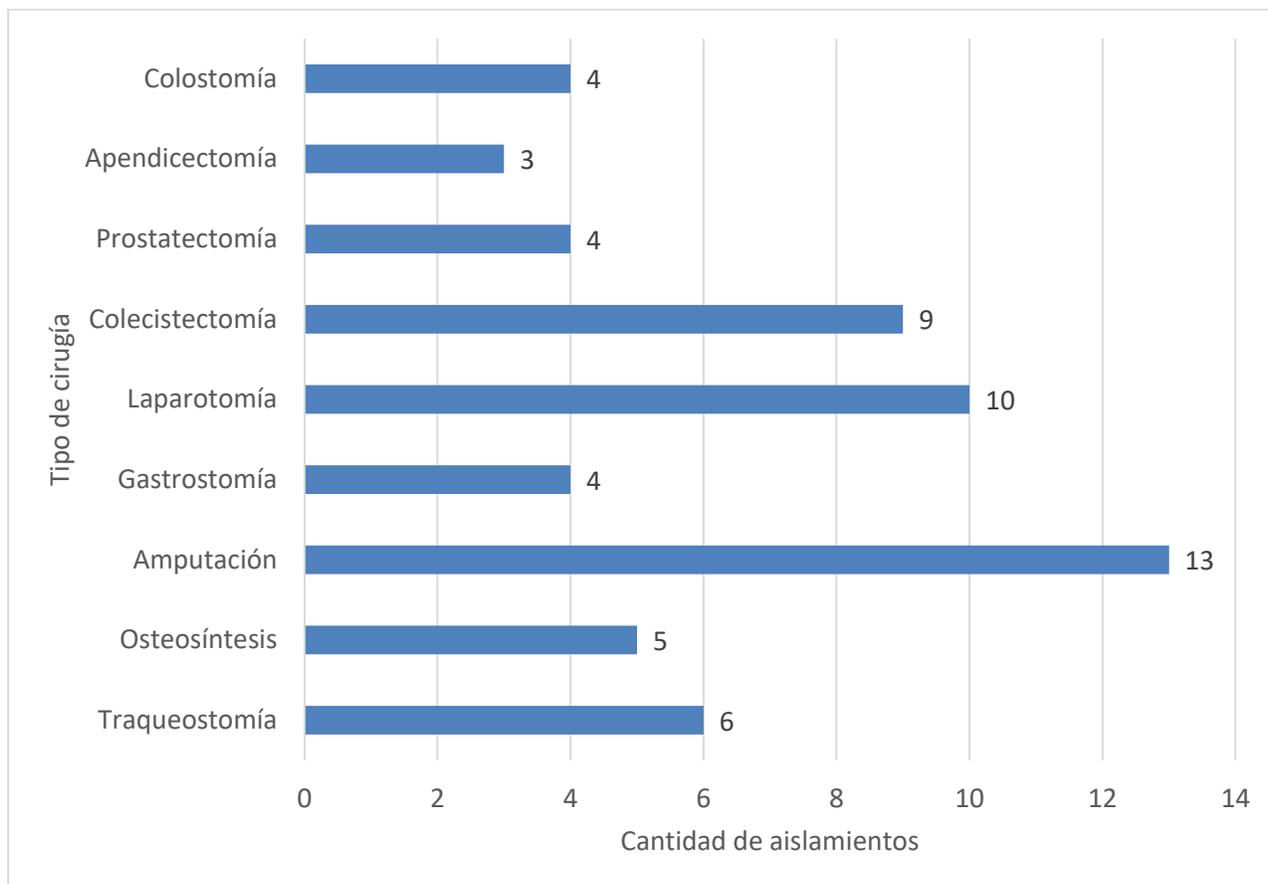
UCI: unidad de cuidados intensivos, SOP: sala de operaciones, UCIN: unidad de cuidados intensivos neonatales.

Factores de Riesgo

Cirugía reciente

Se reportaron 58 (29%) EP-BLEE en pacientes con antecedentes de cirugía previa en los últimos 6 meses. La amputación fue el procedimiento con mayor número de aislamientos reportados, identificando 13 (7%) EP-BLEE, seguido por laparotomía y colecistectomía con 10 (5%) y 9 (5%) aislamientos, respectivamente (gráfico 4).

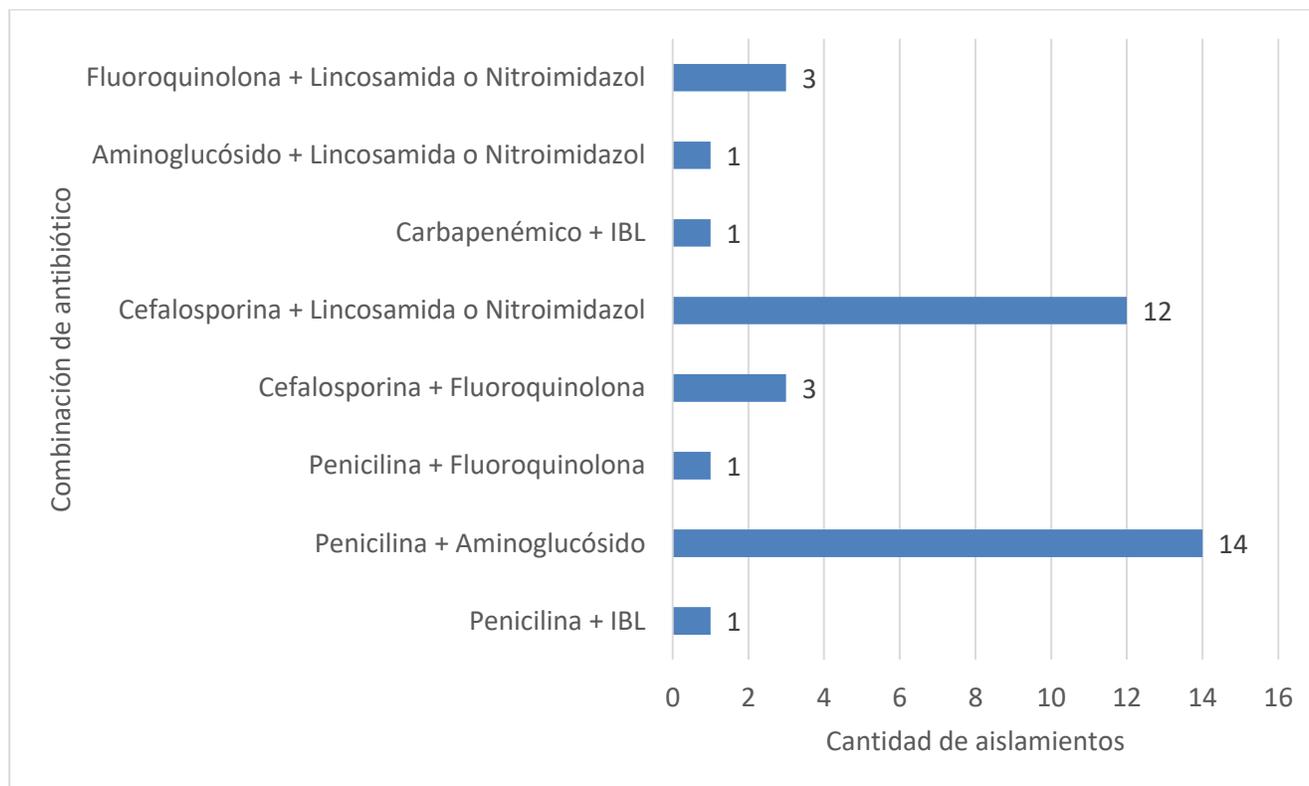
Gráfico 4. Tipo de cirugía reciente en pacientes con reporte de EP-BLEE



Antibioticoterapia previa

Se reportaron 58 (29%) EP-BLEE en pacientes con antecedentes de uso previo de antibiótico en los últimos 3 meses. El uso de una combinación de antibióticos fue lo más frecuentemente reportado (18%), siendo penicilina + aminoglucósido y cefalosporina + lincosamida o nitroimidazol, las combinaciones más usadas con 14 (7%) y 12 (6%) aislamientos reportados, respectivamente (gráfico 5). El resto había utilizado monoterapia (11%).

Gráfico 5. Combinación de antibiótico previamente utilizado en pacientes con reporte de EP-BLEE

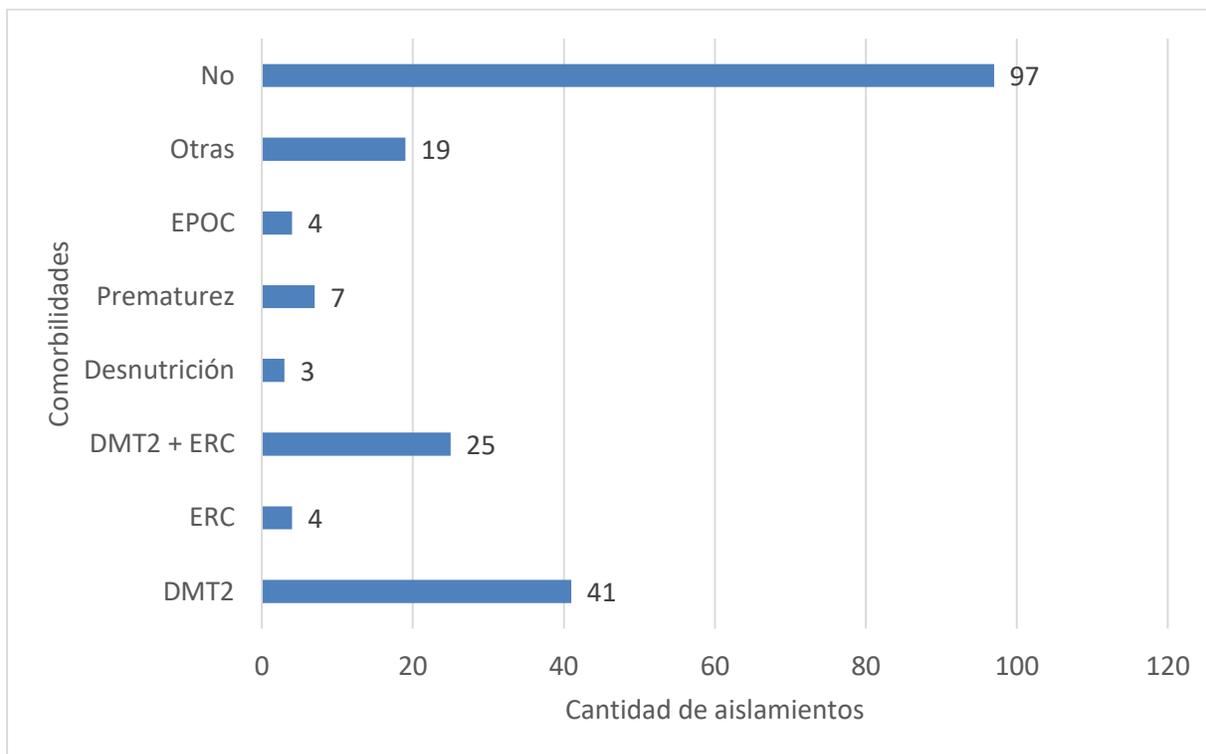


IBL: inhibidor de betalactamasa.

Comorbilidades

Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) fue la comorbilidad identificada con mayor frecuencia en 41 (21%) aislamientos de EP-BLEE reportados (gráfico 6). A pesar que la enfermedad renal crónica (ERC) solo se encontró en 4 (2%) aislamientos, la combinación de DMT2 + ERC se presentó en 25 (13%). En la casilla de "otras", se encuentran: embarazo, infección del tracto urinario materno, alcoholismo, drogadicción, virus de inmunodeficiencia humana, tuberculosis, accidente cerebrovascular y parálisis cerebral infantil, todas con 19 (11%) aislamientos reportados. No se identificó ninguna comorbilidad en 97 (49%) aislamientos.

Gráfico 6. Comorbilidades de pacientes con reporte de EP-BLEE

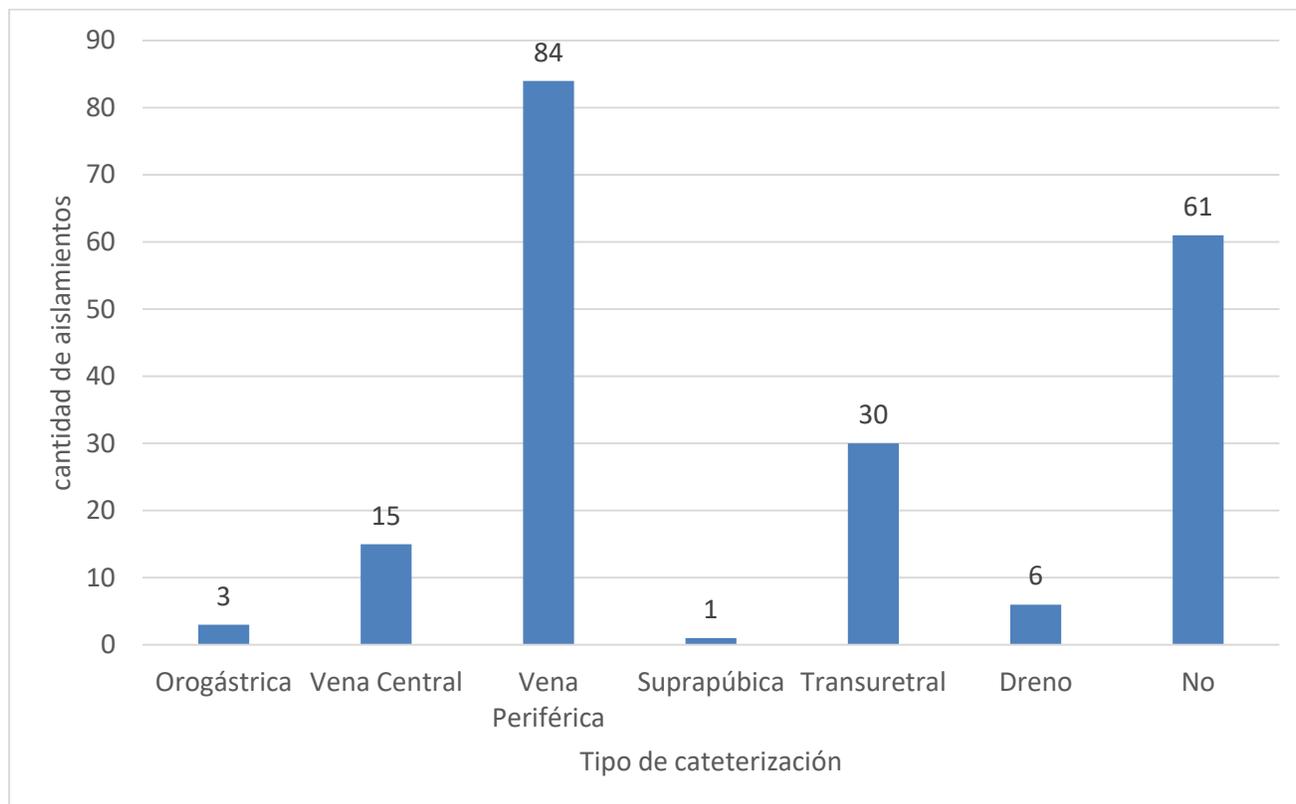


DMT2: diabetes mellitus tipo 2, ERC: enfermedad renal crónica, EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Cateterización

La mayor cantidad de EP-BLEE se encontró en pacientes que utilizaban catéter de vena periférica y sonda transuretral con 84 (42%) y 30 (15%) aislamientos reportados, respectivamente (gráfico 7). En 61 (31%) aislamientos, el paciente no estaba cateterizado.

Gráfico 7. Tipo de cateterización en pacientes con reporte de EP-BLEE



Ventilación asistida

Se reportaron 191 (96%) EP-BLEE en pacientes que no recibían ningún tipo de ventilación asistida; únicamente 9 (5%) aislamientos se reportaron en pacientes con ventilación mecánica.

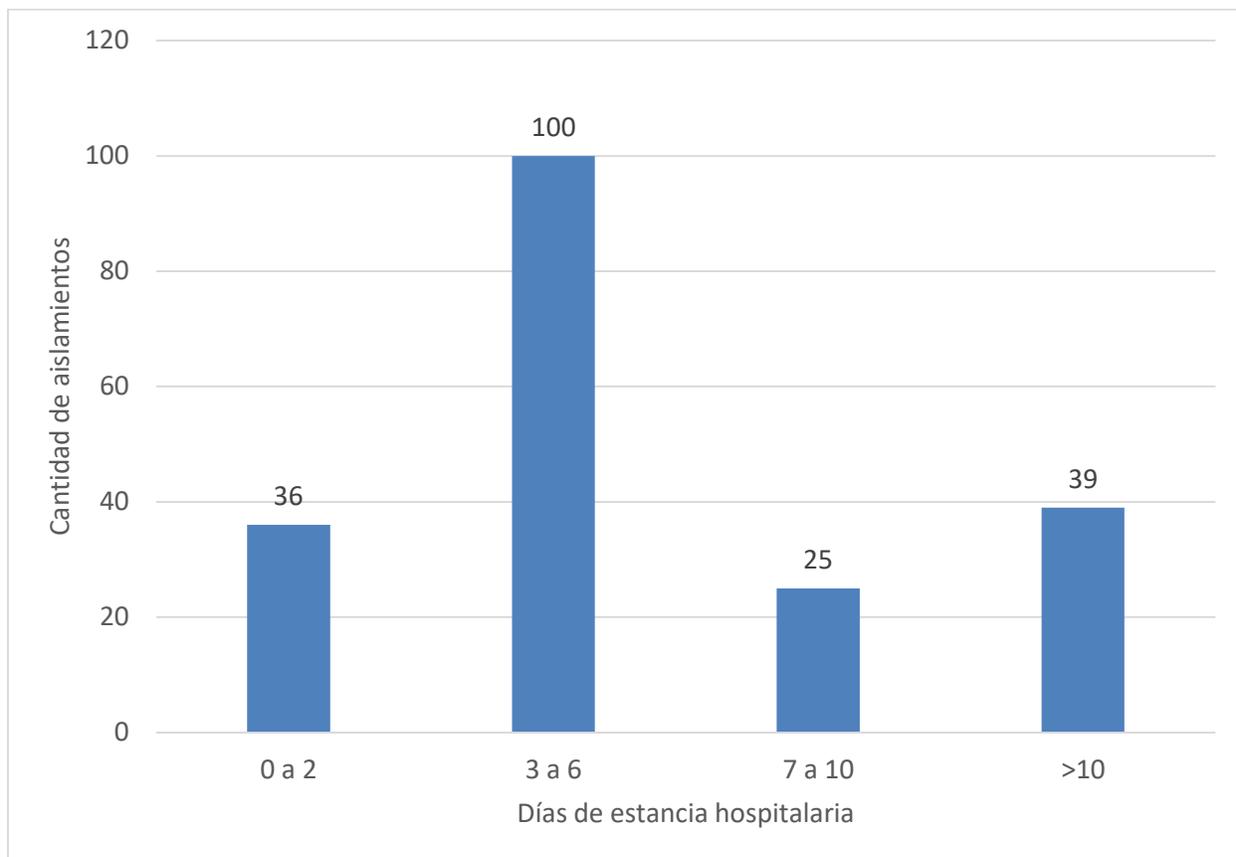
Hospitalización previa

Se reportaron 63 (32%) EP-BLEE en pacientes con antecedentes de hospitalización previa en los últimos 6 meses.

Estancia hospitalaria

La mitad de los aislamientos de EP-BLEE fueron reportados entre el 3-6 día de estancia intrahospitalaria: 100 (50%) (gráfico 8). El resto, 0-2 días: 36 (18%), 7-10 días: 25 (13%) y >10 días: 39 (20%); obteniendo un tiempo promedio de $8,78 \pm 13,42$ días.

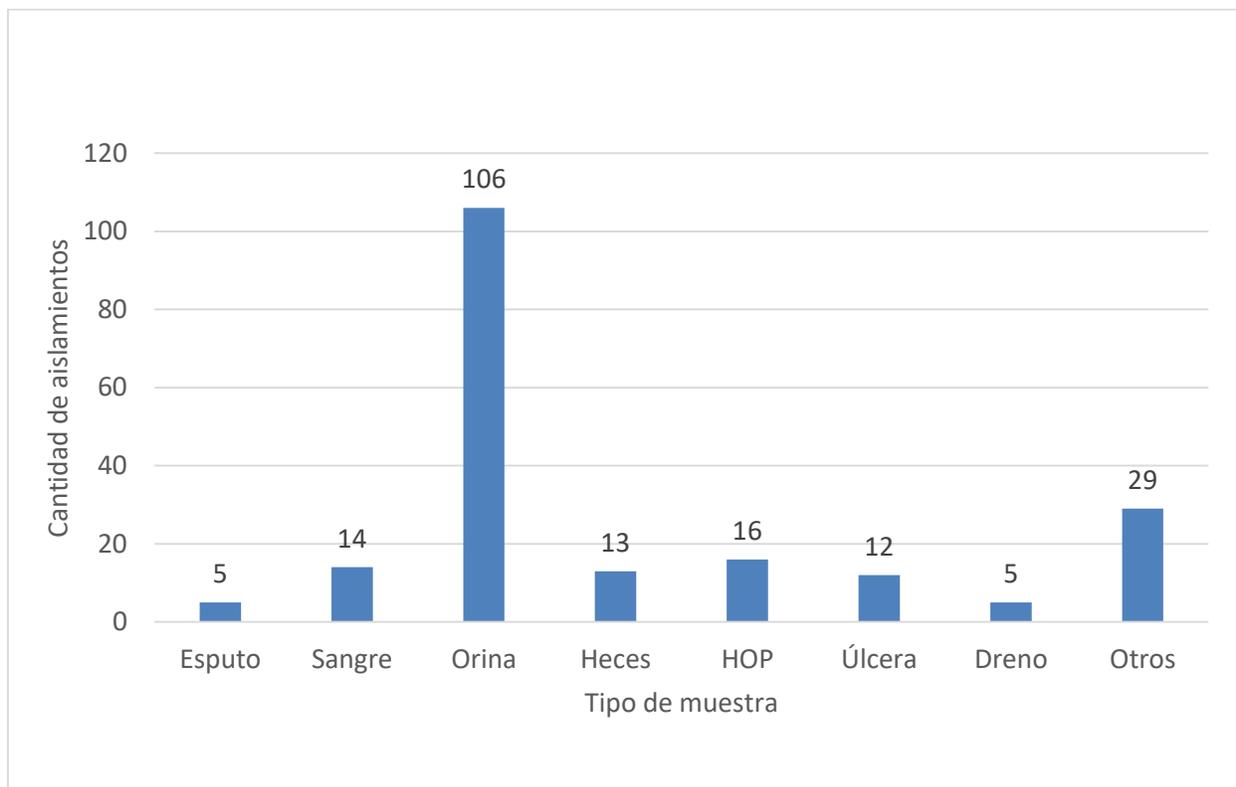
Gráfica 8. Estancia hospitalaria determinada al reporte de EP-BLEE



Especímenes Clínicos

Entre los distintos especímenes clínicos cultivados, orina fue el medio en que se aisló más de la mitad de las EP-BLEE, reportando 106 (53%) aislamientos (gráfico 9), seguido por la categoría de “otros”, que incluyó secreciones de piel, bronquio, abdomen, testículo y vagina, con 29 (15%) aislamientos reportados.

Gráfico 9. Tipos de especímenes clínicos reportados con EP-BLEE



HOP: herida operatoria.

Diagnósticos

Categorías diagnósticas

Los principales diagnósticos de los pacientes se categorizaron por aparato/sistema, reportando aislamientos de EP-BLEE en aparato genitourinario: 57 (29%), sistema tegumentario/osteomuscular: 40 (20%), aparato digestivo: 31 (16%), sistema nervioso: 29 (15%), sistema respiratorio: 19 (10%), sistema circulatorio: 19 (10%) y sistema endócrino/metabólico: 5 (3%).

Patologías clínicas

Se identificaron las patologías con mayor número de aislamientos de EP-BLEE reportadas en cada categoría diagnóstica, encontrando en aparato genitourinario: infección del tracto urinario

(25%), sistema tegumentario/osteomuscular: infección del sitio operatorio (7%) y pie diabético (6%), aparato digestivo: enteritis infecciosa (5%), sistema nervioso: neonato febril (7%) y síndrome febril agudo (4%), sistema respiratorio: neumonía (7%), sistema circulatorio: sepsis (6%) y shock (4%) y sistema endócrino/metabólico: ictericia neonatal (1%).

Patrón de Sensibilidad

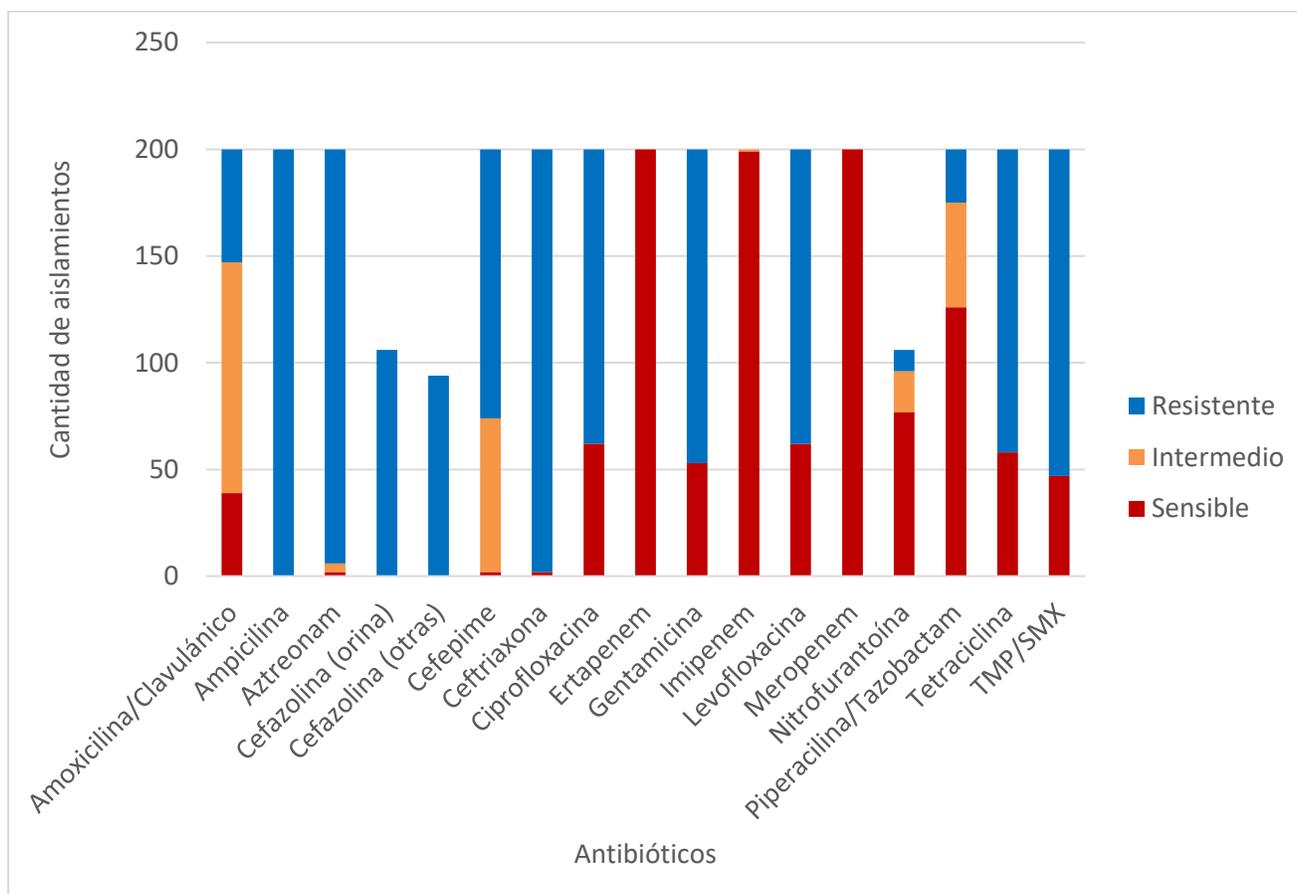
Antibiogramas

Se analizó la sensibilidad de los antibióticos presentes en los 200 antibiogramas reportados, identificando resistencia a EP-BLEE en el 56% de estos; sensibilidad en el 36% y sensibilidad intermedia en el 8%.

Patrón de sensibilidad antibiótica

En cuanto a la sensibilidad de las EP-BLEE reportadas, todas fueron sensibles a ertapenem (100%), imipenem (100%), meropenem (100%), piperacilina/tazobactam (63%) y nitrofurantoína (73%); sensibilidad intermedia: amoxicilina/clavulánico (54%); y resistentes: ampicilina (100%), cefazolina (100%), aztreonam (97%), cefepime (63%), ceftriaxona (99%), ciprofloxacino (69%), levofloxacino (69%), gentamicina (74%), tetraciclina (71%) y cotrimoxazol [TMP/SMX] (77%) (gráfico 10).

Gráfico 10. Patrón de sensibilidad del total de EP-BLEE reportadas

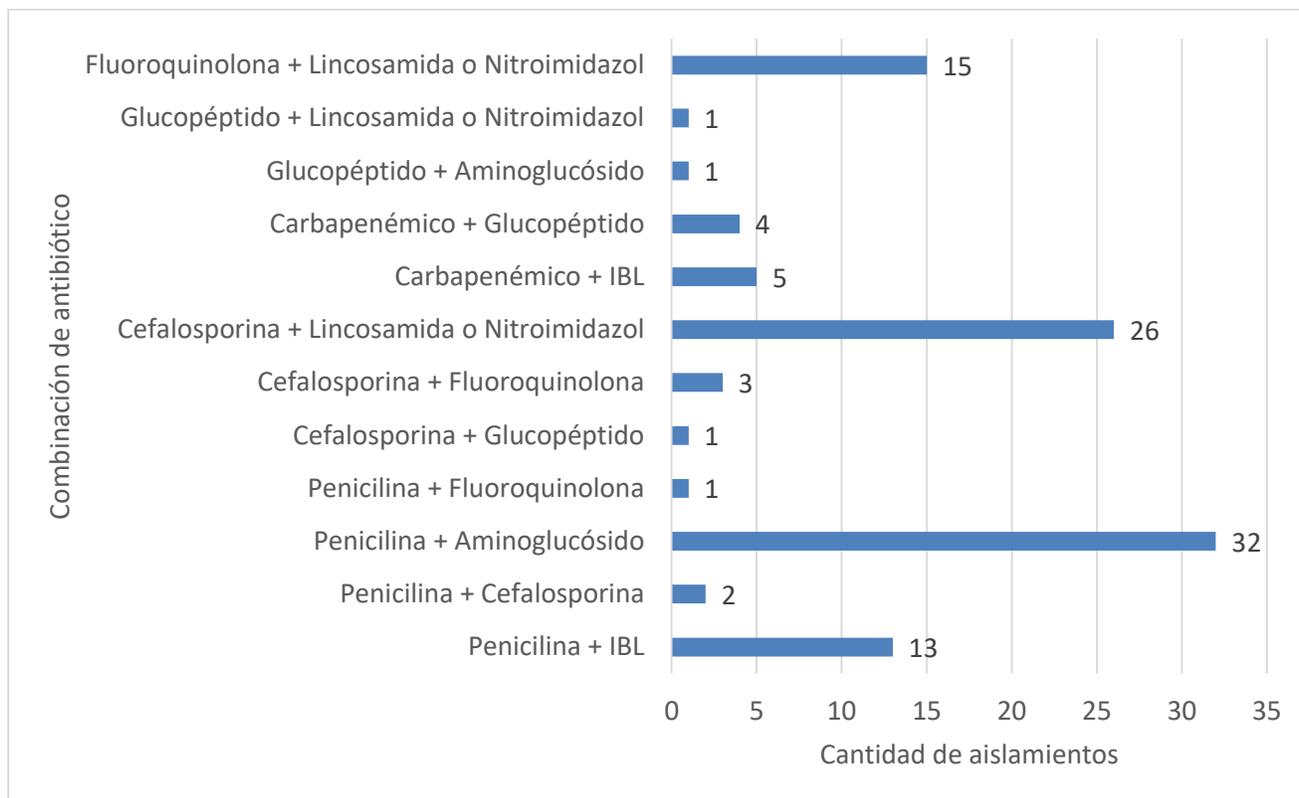


Antibioticoterapia

Antibioticoterapia utilizada por los médicos

Se reportaron 104 (52%) EP-BLEE en pacientes tratados con una combinación de antibióticos, siendo penicilina + aminoglucósido la combinación más usada (16%), seguido por cefalosporina + lincosamida o nitroimidazol (13%), fluoroquinolona + lincosamida o nitroimidazol (8%) y penicilina + IBL (ácido clavulánico, tazobactam o sulbactam) (7%) (gráfico 11). Entre los tratados con monoterapia antibiótica (38%), los mayormente indicados fueron los grupos de cefalosporinas (14%) y fluoroquinolonas (13%). Cabe destacar que en 21 (11%) aislamientos reportados, el paciente no tenía ningún antibiótico indicado al momento de referencia.

Gráfico 11. Combinación de antibiótico utilizado en pacientes con reporte de EP-BLEE



IBL: inhibidor de betalactamasa.

Sensibilidad del antibiótico utilizado

153 (76%) aislamientos de EP-BLEE se reportaron resistentes al antibiótico indicado; 21 (10%) sensibles y 5 (3%) con sensibilidad intermedia. No se incluyeron 21 (11%) aislamientos en el análisis ya que no había ningún antibiótico indicado en el expediente clínico al momento de referencia.

Discusión

En este estudio, se identificaron 132 cepas de *E. coli*, 67 de *K. pneumoniae* y 1 de *K. oxytoca*, entre los 200 aislamientos de EP-BLEE reportados, reforzando los datos publicados por la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana (ReLAVRA) que muestran *E. coli* y *K. pneumoniae* como las principales EP-BLEE aisladas en El Salvador¹⁹. A pesar de esto, se constataron otros microorganismos que no eran reconocidos por el sistema digital VITEK 2 COMPACT, muchos a pesar de ser bacterias productoras de BLEE, como son *Acinetobacter*, *Morganella*, *Proteus*, *Pseudomona* y *Salmonella*, al estar previamente programado a solo reportar *Escherichia* y *Klebsiella* (anexo 8).

En el Programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY, Winokur et al. obtuvo a partir de 19,405 cepas de EP-BLEE, una distribución variable entre los diferentes continentes, con una mayor prevalencia en América Latina (78,7%), seguida por la región del Pacífico Occidental (37,7%), Europa (39,8%), Estados Unidos (15,8%) y Canadá (12,2%)¹⁸; valores que difieren con nuestro estudio (14%), probablemente por la diferencia en el tamaño de la muestra, la extensión geográfica y la sub-detección de algunas EP-BLEE.

La edad promedio de los pacientes con reporte de EP-BLEE fue de 42 años, correspondiendo la mayor cantidad de aislamientos al sexo femenino (58%). Se encontró un resultado similar en un estudio retrospectivo de 110 casos y controles realizado en un hospital de cuarto nivel de Colombia, donde Jiménez et al. obtuvo una edad media de 61 años para los pacientes con reporte de EP-BLEE; 52,3% correspondiendo al sexo femenino⁹.

En el estudio, los servicios de medicina interna (23%), neonatología (19%), emergencia (16%) y cirugía (13%) tuvieron una mayor prevalencia de EP-BLEE en comparación con otros servicios del HNSR. Gomes et al. mostró que en 125 EP-BLEE aisladas de 3 hospitales del

norte de Brasil, 66% procedían de UCI, 22% de unidades de medicina interna y 6,4% de unidades quirúrgicas²⁹; encontrando similitud en este estudio con 2 de los servicios detallados. El tipo de pacientes que se consideran de riesgo en este estudio parece ser variable, ya que no se encontró mayor número de aislamientos de EP-BLEE en pacientes con antecedentes de hospitalización previa (32%), cirugía reciente (29%) o uso de antibiótico previo (29%), tampoco con ventilación mecánica asistida (5%), todos ellos catalogados en un estudio de revisión por Ghafourian et al. como los principales factores de riesgo asociados a la adquisición de BLEE⁵. Hubo similitud con otros factores, como la presencia de comorbilidades (51%) (DMT2 [21%] y DMT2 + ERC [13%]) y cateterismo (69%) (catéter de vena periférica [42%] y sonda transuretral [15%]), encontrados en un estudio retrospectivo de 20 meses realizado por Schoevaerds et al. en un hospital universitario de Bélgica, donde un elevado número de condiciones comórbidas estaban presentes en estos pacientes (DMT2 [23%] y ERC [23%]), así como el hecho de que la mitad de los pacientes se encontraban con catéteres intravasculares, vesicales o tubos de gastrostomía¹³.

El factor de riesgo más significativo fue la estancia hospitalaria. Schoevaerds et al., encontró que el tiempo medio transcurrido entre la admisión hospitalaria y el posterior aislamiento de una EP-BLEE fue de 7 días (intervalo inter-cuartil: 1-18 días)¹³. En este estudio se observó un tiempo promedio de 9 días (DE±13 días) de hospitalización, donde más de la mitad de los aislamientos (82%), los pacientes llevaban más de 48 horas ingresados, llevando a pensar en que el origen probablemente fue nosocomial. Un menor número (18%) tenían menos de 2 días hospitalizados, muchos de ellos dados de alta sin esperar antes el reporte de laboratorio, actitudes de riesgo que fueron observadas pero que no fueron analizadas en este estudio y que tampoco han sido reportadas en otros.

Los aislamientos de cepas productoras de BLEE se originaron de distintos especímenes clínicos según el sitio de la infección. En el estudio por Miranda et al., se revisaron los reportes de laboratorio de 3 años en un hospital del sur de España en las que se aislaron cepas de EP-BLEE, obteniendo que 67,65% provenían de urocultivos⁶. En este estudio, orina fue el principal espécimen clínico cultivado con 53% de los aislamientos de EP-BLEE reportados.

La diversidad de diagnósticos llevó a la categorización de estos por aparatos/sistemas. En el estudio por Schoevaerds et al., las cuatro principales infecciones por EP-BLEE documentadas fueron infección del tracto urinario (56%), infección del tracto respiratorio inferior (27%), septicemia (9%) e infecciones intraabdominales (4%)¹³, encontrando similitudes en nuestro estudio con infección del tracto urinario (25%), neumonía (7%), infección del sitio operatorio (7%) y sepsis (6%). Síndrome febril agudo (4%) y neonato febril (7%) fueron otros diagnósticos presentados en la mayoría de casos que no han sido descritos en otros estudios.

La multirresistencia estuvo presente en el 56% de los antibióticos analizados en el presente estudio. Resistencia a ampicilina (100%), cefazolina (100%), aztreonam (97%), cefepime (63%), ceftriaxona (99%), ciprofloxacino (69%), levofloxacino (69%), gentamicina (74%), tetraciclina (71%) y cotrimoxazol [TMP/SMX] (77%), son reflejo de lo encontrado en el estudio por Miranda et al., donde la resistencia por EP-BLEE a las cefalosporinas de 2ª y 3ª generación junto con el aztreonam y ampicilina fue del 100%; ciprofloxacino y levofloxacino el 65% fue resistente en ambas, gentamicina 23,5% y TMP/SMX 50%⁶. Las cepas aisladas en ese mismo estudio fueron sensibles a imipenem-meropenem (100%), amoxicilina/clavulánico (61,75%), piperacilina/tazobactam (79,40%), cefoxitina (94,10%) y nitrofurantoína (100%)⁶, resultados que coinciden con la sensibilidad en este estudio a ertapenem (100%), imipenem (100%), meropenem (100%), piperacilina/tazobactam (63%) y nitrofurantoína (73%). La adición de un inhibidor de betalactamasa, que también ha sido informada en el estudio por Lukac et al.,

confiere mayor sensibilidad a los antibióticos¹¹, tal como se observó en este estudio con amoxicilina/clavulánico, reportando 20% de los aislamientos sensibles y 54% con sensibilidad intermedia.

Como detalla el estudio de revisión por Curello et al., los estudios sobre BLEE generalmente no han demostrado un beneficio para regímenes combinados en el tratamiento definitivo de infecciones graves por Gram-negativos¹⁰. El uso de una combinación de antibióticos fue lo mayormente indicado en este estudio (52%). Bilavsky et al. encontró en 1,563 pacientes que recibieron antibióticos, 50% fueron tratados con monoterapia y 24% con terapia combinada, y en 26% de los casos, el tratamiento antibiótico no pudo determinarse a partir de los registros médicos¹⁷, hallazgos similares en nuestro estudio donde 11% de los aislamientos reportados, el paciente no tenía indicado ningún antibiótico al momento de referencia; 76% de los aislamientos reportados eran resistentes al antibiótico indicado, variable que no ha sido evaluada en otros estudios.

Conclusiones

La verdadera prevalencia de EP-BLEE en el Hospital Nacional San Rafael es desconocida y probablemente está subestimada por las limitaciones de su detección en el laboratorio. Los métodos actuales de detección por parte del laboratorio clínico del HNSR tienen deficiencias importantes que complican los estudios epidemiológicos y la detección sistemática de EP-BLEE. Mientras que la detección escasa da lugar al uso inapropiado de antibióticos de amplio espectro que complica aún más el problema de la resistencia, la sub-detección puede resultar en fracaso del tratamiento y propagación incontrolada. Probablemente, una "super bacteria", resistente a relativamente todos los antibióticos enlistados, puede aparecer en el futuro.

Se detectó la presencia de EP-BLEE en la mayoría de los servicios del hospital. Se determinó, además, que edades en los extremos de la vida, sexo femenino, la presencia de comorbilidades, cateterismo y la hospitalización prolongada, eran los factores de riesgo más importantes en presencia de EP-BLEE. Observamos también algunas situaciones de portadores de EP-BLEE con alta hospitalaria previo al reporte de laboratorio. Estos hallazgos pueden llegar a afectar estrechamente el manejo clínico de las infecciones, sobre todo al momento de futuras readmisiones de los pacientes colonizados al hospital.

Al incluir la colonización de cualquier sitio anatómico por este tipo de bacterias, obtuvimos una idea de los diagnósticos y especímenes clínicos mayormente involucrados en las infecciones por EP-BLEE. Orina fue el principal medio aislado con este tipo de bacterias, probablemente por la proximidad del aparato urinario con el recto, lo que también hace que ITU sea el diagnóstico más frecuente.

La resistencia antibiótica entre las EP-BLEE del HNSR limita el uso de penicilinas y cefalosporinas y, en cierta medida, de otros grupos de antibióticos como monobactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, tetraciclinas y cotrimoxazol, dejando pocas alternativas terapéuticas disponibles, lo que puede llevar a mayores tasas de morbilidad y mortalidad, así como el aumento en los costos hospitalarios.

Según los hallazgos del estudio, coincidentes con la bibliografía consultada, los carbapenémicos son los antibióticos de elección para el tratamiento de EP-BLEE en la mayoría de infecciones graves. Para infecciones menores, se puede considerar un derivado de penicilina más un inhibidor de betalactamasa. En casos de ITU, nitrofurantoína es el antibiótico de elección.

La terapia combinada utilizada por los médicos desvía la apropiada terapia empírica en las infecciones debidas a EP-BLEE. Al revisar el expediente clínico, un alto número de

aislamientos reportados eran resistentes al antibiótico actualmente indicado y otro menor número no tenía indicado ninguno, mostrando que hay cierta proporción de médicos que probablemente no revisan oportunamente los reportes de laboratorio o no consideran las opciones de otros fármacos para tratar tales infecciones.

En resumen, la colonización por EP-BLEE y el uso rutinario del mismo tratamiento empírico, en combinación con la sub-detección de microorganismos productores de BLEE y el hallazgo de portadores de EP-BLEE con alta hospitalaria previo al reporte de laboratorio, hacen que estos sean los factores determinantes de adquisición de resistencia bacteriana más probables, y refuerzan el hallazgo de la duración de la estancia hospitalaria como principal factor de riesgo para la colonización por EP-BLEE.

Limitantes del Estudio

Entre las limitaciones del estudio, debe considerarse que fue realizado en un solo centro asistencial de segundo nivel de El Salvador, en un tiempo definido, lo que limita su correlación con otras instituciones. De igual manera, la pequeña diversidad genética entre las EP-BLEE (2 géneros diferentes) de un solo hospital no parece ilustrar la magnitud del problema. Seguramente la importancia de realizar más estudios de este tipo con una muestra mayor aumentará a medida que las EP-BLEE continúen apareciendo en los hospitales de El Salvador.

Recomendaciones

Las decisiones terapéuticas deben basarse en el conocimiento de la distribución intrahospitalaria de los microorganismos y sus patrones de sensibilidad. La detección rápida y amplia en los laboratorios clínicos es esencial para el reconocimiento juicioso de microorganismos resistentes a los antimicrobianos. El laboratorio que analiza los cultivos de

los distintos especímenes clínicos debe aplicar las recomendaciones actuales de la Comisión Nacional contra la Resistencia Bacteriana de El Salvador para la detección y notificación de BLEE.

La fuerte asociación entre infección por EP-BLEE y la estancia hospitalaria sugiere que la detección sistemática de EP-BLEE puede proporcionar información útil para guiar la terapia empírica en grupos de pacientes de alto riesgo. Por otra parte, es aconsejable esperar siempre el antibiograma antes de dar el alta hospitalaria y tener precauciones de aislamiento de contacto en la readmisión hospitalaria para todos los pacientes identificados como positivos para la infección por EP-BLEE durante una estancia hospitalaria anterior, cualquiera que sea el tiempo transcurrido desde la admisión previa.

Al tratar con el paciente infectado, se debe dar prioridad a los antimicrobianos apropiados y efectivos. Nuestros hallazgos sugieren que la reducción del uso de determinadas combinaciones de antibióticos puede ser una estrategia útil para ayudar a reducir la prevalencia de EP-BLEE. El uso de penicilinas de amplio espectro y cefalosporinas de 3ª generación debe restringirse a situaciones clínicas en las que los antibióticos más antiguos y de espectro más limitado probablemente sean ineficaces. Anticiparse al patrón de resistencia del microorganismo que infecta a un paciente en base a los factores de riesgo asociados permitiría la elección de un tratamiento antibiótico empírico apropiado. Independientemente de la elección de antibiótico, un cultivo post-tratamiento para comprobar curación es esencial. Igualmente, una segunda opinión por parte de un especialista en enfermedades infecciosas sería óptimo para guiar un mejor manejo a nivel intrahospitalario.

Nuevos métodos son necesarios para la toma de decisiones en pacientes colonizados con EP-BLEE, tanto en la terapia empírica como en las medidas de control de la infección. Algunos de estos métodos pueden basarse en la detección; alternativamente, puede ser sensato aplicar

una estrategia uniforme que asuma que todos los pacientes son BLEE positivos. Es por ello que los médicos en el control y manejo de infecciones necesitan identificar y caracterizar rápidamente estos microorganismos para minimizar la propagación y ayudar a seleccionar el uso más apropiado de antibióticos.

Para limitar la transmisión, se necesitarían procedimientos básicos de prevención y control de infecciones, tales como: descontaminación apropiada de manos, uso de guantes, prácticas asépticas apropiadas, estrategias de aislamiento y prácticas de esterilización y desinfección, así como evitar procedimientos invasivos innecesarios, incluyendo cateterismos; e investigar la contaminación ambiental. Asimismo, contar con estrategias de intervención, por ejemplo, la rotación de antibióticos, así como la educación continua del personal, son necesarias para reducir la prevalencia y propagación de estos patógenos cada vez más resistentes.

La instalación de programas educativos que promuevan las técnicas asépticas y la instalación de comités de uso de antibióticos deberían ser medidas costo-efectivas que limiten la transmisión de estas infecciones en dicho hospital. Los análisis epidemiológicos de este estudio pueden utilizarse para ayudar a guiar las medidas de control diseñadas para combatir las infecciones nosocomiales causadas por cepas productoras de BLEE y desarrollar directrices de tratamiento para el uso racional de los antibióticos.

Se necesitarán otros estudios prospectivos para evaluar los programas de detección de EP-BLEE y de administración antimicrobiana en un futuro. Esperamos que la información de este estudio ayude a enfocar y dirigir las estrategias de enseñanza y concientización en el HNSR a través de programas ya existentes, tales como capacitaciones y conferencias educativas, dirigidas tanto a médicos residentes como a personal de enfermería y de servicio.

Anexos

Anexo 1. Formulario de Recolección de Datos

Enterobacterias Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido:
Prevalencia, Multirresistencia y Tratamiento en Hospital Nacional San Rafael.

Número de Expediente: _____ Núm. Correlativo: _____

Edad: _____ Sexo: Femenino Masculino Servicio de hospitalización:

MI UCI Emergencia Observación Cirugía SOP Ortopedia

Pediatría Neonatología UCIN Ginecología Obstetricia Partos

Factores de Riesgo

Cirugía Reciente (últimos 6 meses): Sí No (Procedimiento) _____

Antibiótico Previo (últimos 3 meses): Sí No (Nombre) _____

Comorbilidades: Sí No ¿Cuál? _____

Cateterización: Sí No Sitio: _____

Paciente Intubado: Sí No Tipo: AMBU VM VAFO

Reingresos (<6 meses): Sí No Estancia Intrahospitalaria: _____

Diagnóstico

Determinación de EP-BLEE

EP-BLEE aislada: _____ Espécimen Clínico: _____

Antibiograma (CMI)

Sensible: _____

Intermedio: _____

Resistente: _____

Antibioticoterapia

Comentarios / Observaciones

Fecha de llenado: ____ / ____ de 2016. Responsable: _____

Anexo 2.
Copia Digital de la Carta de Aprobación del Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Nacional San Rafael (CODEIC).



Santa Tecla, 06 de julio de 2016

A quien Interese:

Por medio de la presente, se hace constar que los investigadores del trabajo "*Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido: incidencia, multiresistencia y tratamiento en el Hospital Nacional San Rafael*" han sido autorizados por este comité para realizar dicha investigación, luego de la revisión correspondiente del mismo.

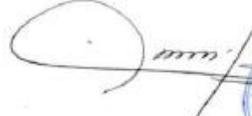
Por lo anterior, se solicita, prestar todas las facilidades correspondientes para tal fin a los siguientes investigadores:

1. Gerardo Andrés Boillat Oriani
2. Carlos Fernando Elías Santos
3. Oscar Mauricio Escalón González

A los seis días del mes de julio de dos mil dieciséis.


Dr. Manuel Enrique Bello
Presidente del Comité de Ética de la Investigación
Hospital Nacional San Rafael.

Dr. Manuel Enrique Bello Quezada
DOCTOR EN MEDICINA
J.V.P.M. No. 6899


3:54pm
6/07/2016


Anexo 3.
Consentimiento Informado

**Enterobacterias Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido:
Prevalencia, Multirresistencia y Tratamiento en Hospital Nacional San Rafael.**

Boillat, G. Elías, C. Escalón, O. Ascencio, T MD.

Lea la siguiente información para estar seguro que comprende perfectamente el objetivo del estudio que se realizará y firme en caso que esté de acuerdo a participar en él.

De manera resumida, el objetivo es determinar la prevalencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (EP-BLEE), su patrón de sensibilidad y la antibioticoterapia utilizada en pacientes ingresados al Hospital Nacional San Rafael durante el período de Julio a Octubre de 2016. Es decir, se revisará su reporte bacteriológico, al igual que su expediente clínico, y se tomará la información que sea relevante para los investigadores. Igualmente, se le realizará una entrevista en caso de no obtener todos los datos del expediente clínico. Al igual que los investigadores, no recibirá ningún beneficio económico participar en el estudio ya que los resultados tendrán únicamente interés científico para los investigadores y el hospital. Asimismo, se garantiza la confidencialidad, esto quiere decir que siempre se guardará en anónimo sus datos. Los resultados obtenidos podrán ser consultados por los investigadores del estudio y ser publicados en revistas científicas sin que consten con los datos personales de los pacientes colonizados con EP-BLEE. En cualquier momento puede solicitar sus datos personales, así como revocar esta autorización.

Después de haber leído y comprendido el objetivo del estudio, y haber resuelto las dudas que tenía, doy mi conformidad para participar en él.

Lugar y Fecha: _____ / _____ de _____ de 2016

Nombre y Firma: _____

(Paciente)

(Médico que informa)

Anexo 4.

Hoja Informativa

Enterobacterias Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido: Prevalencia, Multirresistencia y Tratamiento en Hospital Nacional San Rafael.

Boillat, G. Elías, C. Escalón, O. Ascencio, T MD.

Las enterobacterias son responsables de una gran cantidad de infecciones en el hospital. Uno de los mecanismos de resistencia por estas bacterias es la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), que les confiere la capacidad de inactivar distintas clases de antibióticos.

La mayor prevalencia de enterobacterias está en América Latina. Los datos públicos más recientes de El Salvador referentes a la epidemiología y detección de enterobacterias reportados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) son de hace 7 años, siendo algunas productoras de BLEE potencialmente emergentes en nuestro país.

A pesar de que numerosos factores de riesgo de infección por estas bacterias han sido descritas en una variedad de entornos geográficos y epidemiológicos, pocos estudios han evaluado los factores específicos al ámbito hospitalario de El Salvador.

La falta de detección de estas bacterias puede traer graves consecuencias a un centro hospitalario, desde el mal uso de múltiples antibióticos que aumentan el riesgo de toxicidad y llevan al uso complejo de antibióticos específicos de alto costo, hasta estancias prolongadas en el hospital, aumento en la atención terapéutica y mayor riesgo de infección a otros pacientes con bacterias resistentes, si no se atienden adecuadamente.

Por lo tanto, debido a la creciente prevalencia de enterobacterias productoras de BLEE en América Latina y la falta de datos epidemiológicos locales actualizados, este estudio pretende determinar la prevalencia de enterobacterias productoras de BLEE, su patrón de sensibilidad y la terapia antibiótica utilizada en pacientes ingresados al Hospital Nacional San Rafael durante un período de 3 meses, con el fin de establecer un tratamiento eficaz de elección y medidas de control adecuadas.

Cualquier consulta puede contactarnos al correo electrónico: ep.blee@gmail.com

Informe de paciente (Valor predeterminado)

Apellidos, Nombre: [REDACTED]

Registro: [REDACTED]

Registro: [REDACTED]

Fecha de finalizado:

::

Sexo: MASCULINO

Edad: 74 AÑOS

::

Tipo de Muestra: SECRECIONES

Tipo de examen: CULTIVO BACTERIOLOGICO

Fecha de recepcion: 05/10/2016 12:18 PM

Comentario de la muestra: M8

Número de muestra: 1651016

Resultado: POSITIVO

Procedencia: 3 EMERGENCIA

Servicio hospitalario: 3-0 EMERGENCIA

Fecha de finalizado:

Sitio de extraccion: NO ESPECIFICA

Número de aislamiento: 1 Proteus mirabilis <promir>

Número de aislamiento: 2 Escherichia coli <esccol>

	1 promir		2 esccol	
	CMI	Cat.	CMI	Cat.
Amoxicilina/Ácido clavulánico	8	S	4	S
Ampicilina	>=32	R	>=32	R
Aztreonam	<=1	I	16	R
BLEE			Pos	+
Cefazolina (orina)	16	R	>=64	R
Cefazolina (otra)	16	R	>=64	R
Cefepima	<=1	I	2	I
Ceftriaxona	<=1	I	>=64	R
Ciprofloxacino	<=0,25	S	>=4	R
Ertapenem	<=0,5	S	<=0,5	S
Gentamicina	<=1	S	>=16	R
Imipenem	8	R	<=0,25	S
Levofloxacino	<=0,12	S	>=8	R
Meropenem	<=0,25	S	<=0,25	S
Piperacilina/Tazobactam	<=4	S	<=4	S
Tetraciclina	>=16	R	>=16	R
Trimetoprima/Sulfametoxazol	>=320	R	>=320	R

*= Deducido

HOSPITAL NACIONAL SAN RAFAEL
LABORATORIO CLINICO
MICROBIOLOGIA

Informe de paciente (Valor predeterminado)

Apellidos, Nombre: [REDACTED]

Registro: [REDACTED]

Registro: [REDACTED]

Fecha de finalizado:

∴

Sexo: FEMENINO

Edad: 55 AÑOS

∴

Tipo de Muestra: SECRECION

Tipo de examen: CULTIVO BACTERIOLOGICO

Fecha de recepcion: 19/08/2016 10:18 AM

Comentario de la muestra: M8

Procedencia: 2- HOSPITALIZACION

Servicio hospitalario: 2-1- MEDICINA

Fecha de finalizado:

Número de muestra: 7520816

Resultado: POSITIVO

Número de
aislamiento: 1

Número de
aislamiento: 2

Acinetobacter baumannii complex <acibcx>

Klebsiella pneumoniae ssp *pneumoniae* <klepne>

	1 acibcx		2 klepne	
	CMI	Cat.	CMI	Cat.
Amoxicilina/Ácido clavulánico	16	R	16	I
Ampicilina	>=32	R	>=32	R
Aztreonam	>=64	R	16	R
BLEE			Pos	+
Cefazolina	>=64	R		
Cefazolina (orina)			>=64	R
Cefazolina (otra)			>=64	R
Cefepima	>=64	R	2	I
Ceftriaxona	>=64	R	>=64	R
Ciprofloxacino	>=4	R	>=4	R
Ertapenem			<=0,5	S
Gentamicina	>=16	R	<=1	S
Imipenem	0,5	S	<=0,25	S
Levofloxacino	>=8	R	>=8	R
Meropenem	1	S	<=0,25	S
Piperacilina/Tazobactam			16	S
Tetraciclina	2	S	>=16	R
Trimetoprima/Sulfametoxazol	>=320	R	>=320	R

*= Deducido

HOSPITAL NACIONAL SAN RAFAEL
LABORATORIO CLINICO
MICROBIOLOGIA

Informe de paciente (Valor predeterminado)

Apellidos, Nombre: [REDACTED]

Registro: [REDACTED]

Registro: [REDACTED]

Fecha de finalizado:

::

Sexo: MASCULINO

Edad: 85 AÑOS

::

Tipo de Muestra: SECRECIONES

Tipo de examen: CULTIVO BACTERIOLOGICO

Fecha de recepcion: 18/09/2016 09:18 AM

Comentario de la muestra: M18

Procedencia: 2 HOSPITALIZACION

Servicio hospitalario: 2-1 MEDICINA

Fecha de finalizado:

Número de muestra: 6860916

Resultado: POSITIVO

Número de
aislamiento: 1

Escherichia coli <escoc>

Número de
aislamiento: 2

Pseudomonas aeruginosa <pseae>

	1 escoc		2 pseae	
	CMI	Cat.	CMI	Cat.
Amoxicilina/Acido clavulánico	16	I	>=32	R
Ampicilina	>=32	R	>=32	R
Aztreonam	>=64	R		
BLEE	Pos	+		
Cefazolina			>=64	R
Cefazolina (orina)	>=64	R		
Cefazolina (otra)	>=64	R		
Cefepima	>=64	R	16	I
Ceftriaxona	>=64	R	>=64	R
Ciprofloxacino	>=4	R	>=4	R
Ertapenem	<=0,5	S		
Gentamicina	>=16	R	>=16	R
Imipenem	1	S	>=16	R
Levofloxacino	>=8	R	>=8	R
Meropenem	<=0,25	S	>=16	R
Piperacilina/Tazobactam	8	S	>=128	R
Tetraciclina	<=1	S	>=16	R
Trimetoprima/Sulfametoxazol	<=20	S	>=320	R

*= Deducido

Abreviaciones

ACV	accidente cerebrovascular
ADN	ácido desoxirribonucleico
AMBU	bolsa autoinflable
BLEE	betalactamasas de espectro extendido
CODEIC	Comité de Ética de Investigación Clínica
CLSI	Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio
CMI	concentración mínima inhibitoria
DMT2	diabetes mellitus tipo 2
EAP	edema agudo de pulmón
ECN	enterocolitis necrotizante
ECOS	Equipos Comunitarios de Salud Familiar y Especializados
EEUU	Estados Unidos de América
EHH	estado hiperosmolar hiperglucémico.
EP-BLEE	enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido
ERC	enfermedad renal crónica
ERGE	enfermedad por reflujo gastroesofágico
HNSR	Hospital Nacional San Rafael
IBL	inhibidor de betalactamasas
ID / AST	identificación microbiana / pruebas de sensibilidad a los antibióticos
IDSA	Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas
ISO	infección del sitio operatorio
ITU	infección del tracto urinario
MI	medicina interna

OPS	Organización Panamericana de la Salud
PBP	proteínas fijadoras de penicilina
PCI	parálisis cerebral infantil
ReLAVRA	Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana
RPM	ruptura prematura de membranas
SCA	síndrome coronario agudo
SMART	Estudio para el Monitoreo de Tendencias de Resistencia Antimicrobiana
SOP	sala de operaciones
TB	tuberculosis
TCE	trauma craneoencefálico
TEST	Estudio de Evaluación y Vigilancia de Tigeciclina
TMP/SMX	cotrimoxazol
UCI	unidad de cuidados intensivos
UCIN	unidad de cuidados intensivos neonatales
UCSF	Unidad Comunitaria de Salud Familiar
UJMD	Universidad Dr. José Matías Delgado
VAFO	ventilación de alta frecuencia oscilatoria
VIH	virus de inmunodeficiencia humana
VM	ventilación mecánica

Glosario

Aislamiento	Microorganismo que se encuentra separado y sin contacto con otros.
Antibiograma	Método que determina la sensibilidad de un microorganismo a los antibióticos.
Antibioticoterapia	Tratamiento terapéutico que consiste en el uso de antibióticos.
Betalactámicos	Antibióticos bactericidas que inhiben la síntesis de la pared bacteriana.
BLEE	Betalactamasas de espectro extendido, son enzimas con la capacidad de inactivar los antibióticos betalactámicos.
CMI	Concentración mínima inhibitoria, es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo.
Comorbilidades	La presencia de uno o más trastornos además del trastorno primario.
Enterobacterias	Grupo familiar de bacterias Gram-negativas.
Espécimen Clínico	Parte de un individuo que se toma como muestra clínica para procesamiento o estudio.
IBL	Inhibidor de betalactamasas, grupo de medicamentos que, administradas en conjunto con antibióticos betalactámicos, inhiben las betalactamasas, reduciendo la resistencia bacteriana.
Multirresistencia	Capacidad de desarrollar resistencia a múltiples antimicrobianos.
Prevalencia	Proporción de individuos de una población que presentan una característica determinada en un período determinado.
Sensibilidad	Susceptibilidad que presenta un microorganismo hacia un antibiótico.
VITEK 2 Compact	Sistema automatizado de identificación microbiana y pruebas de sensibilidad a los antibióticos.

Referencias Bibliográficas

1. Hee Kim M, Joo Lee H, Sun Park K, Tae Suh J. Molecular Characteristics of Extended Spectrum β -Lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and the Prevalence of *qnr* in Extended Spectrum β -Lactamase Isolates in a Tertiary Care Hospital in Korea. *Yonsei Medical Journal*. 2010; 51(5): 768-774.
2. Lee JH, Bae IK, Lee SH. New Definitions of Extended-Spectrum β -Lactamase Conferring Worldwide Emerging Antibiotic Resistance. *Medicinal Research Reviews*. 2012; 32(1): 216-232.
3. Nordberg V, Quizhpe Peralta A, Galindo T, Turlej-Rogacka A, Iversen A, et al. High Proportion of Intestinal Colonization with Successful Epidemic Clones of ESBL-Producing Enterobacteriaceae in a Neonatal Intensive Care Unit in Ecuador. *PLoS ONE*. 2013. 8(10): e76597. doi:10.1371/journal.pone.0076597
4. Paterson DL. Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). *Clinical Microbiology and Infection*. 2000; 6(9): 460-3.
5. Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. *Current Issues in Molecular Biology*. 2015; 17: 11-22.
6. Miranda García Ma C. *Escherichia coli* portador de betalactamasas de espectro extendido. *Resistencia. Sanidad militar*. 2013; 69(4): 244-248.
7. Zahar et al. Duration of colonization by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase and risk factors for persistent faecal carriage. *The Journal of Hospital Infection*. 2010; 75(1): 76-8.

8. Rivera-Jacinto MA. Betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* aisladas de reservorios inanimados en un hospital del norte del Perú. *Revista Española de Quimioterapia*. 2012; 25(2): 161-163.
9. Jiménez A, Alvarado A, Gómez F, Carrero G, Fajardo C. Factores de riesgo asociados al aislamiento de *Escherichia coli* o *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en un hospital de cuarto nivel en Colombia. *Biomédica*. 2014; 34(1): 16-22.
10. Curello J, MacDougall C. Beyond Susceptible and Resistant, Part II: Treatment of Infections Due to Gram-Negative Organisms Producing Extended-Spectrum β -Lactamases. *Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*. 2014; 19(3): 156-164.
11. Lukac PJ, Bonomo RA, Logan LK. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in children: old foe, emerging threat. *Clinical Infectious Diseases*. 2015; 60(9): 1389-97.
12. Sibhghatulla S, Jamale F, Shazi S, Syed M, Danish R, Mohammad AK. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Science*. 2015; 22(1): 90-101.
13. Schoevaerdt et al. Clinical profiles of patients colonized or infected with extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae isolates: a 20 month retrospective study at a Belgian University Hospital. *BMC Infectious Diseases*. 2011; 11:12.
14. Idowu OJ, Onipede AO, Orimolade AE, Akinyoola LA, Babalola GO. Extended-spectrum Beta-lactamase Orthopedic Wound Infections in Nigeria. *Journal of Global Infectious Diseases*. 2011; 3(3): 211-215.
15. Mauldin P. D., Salgado C. D., Hansen I. S., Durup D. T., Bosso J. A. Attributable hospital cost and length of stay associated with health care-associated infections caused by antibiotic-

resistant gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010; 54(1): 109-115.

16. Freeman JT, McBride SJ, Nisbet MS, Gamble GD, Williamson DA, Taylor SL, Holland DJ. Bloodstream infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae at a tertiary care hospital in New Zealand: risk factors and outcomes. *International Journal of Infectious Diseases*. 2012; 16(5): e371-4. doi: 10.1016/j.ijid.2012.01.008.

17. Bilavsky et al. Risk factors for colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae on admission to rehabilitation centres. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014; 20(11): O804-10.

18. Winokur PL, Cantón R, Casellas JM, Legakis M. 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* 2001;32 Suppl 2:S94-S103.

19. Informe Anual de la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos I 2010. Disponible en:

http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=24101&Itemid

20. Identification of Enterobacteriaceae. UK Standards for Microbiology Investigations. Standards Unit, Microbiology Services, PHE. 2015; 16(4): 1-34.

21. Hong Nhung P, Ohkusu K, Mishima N, Noda M, Monir Shah M, Sun X, et al. Phylogeny and species identification of the family Enterobacteriaceae based on dnaJ sequences. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2007; 58: 153-61.

22. Iversen C, Lehner A, Mullane N, Bidlas E, Cleenwerck I, Marugg J, et al. The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov. *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov.,

Cronobacter sakazakii subsp. *malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter* genomospecies 1. *BMC Evol Biol* 2007; 7: 64.

23. Holt JG, Krieg N R, Sneath P H A, Staley J T, Williams S T, editors. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1994. p. 175-222.

24. Janda JM, Abbott SL. *The Genera Klebsiella and Raoultella. The Enterobacteria*. 2 ed. Washington, USA: ASM Press; 2006. p. 115-29

25. O'Hara CM, Brenner FW, Miller JM. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*. 2000; 13: 534-46.

26. Identification of *Salmonella* species. UK Standards for Microbiology Investigations. Standards Unit, Microbiology Services, PHE. 2015; 24(3): 1-23.

27. García AM, García E, Hernández A, Ruiz J, Yagüe G, Herrero JA, Gómez J. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Revista Española de Quimioterapia*. 2011; 24(2): 57-66.

28. Rawat D, Nair D. Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of Global Infectious Diseases*. 2010; 2(3): 263-274.

29. Gomes A, Garcia S, Monteiro-Neto V, Morais R, Guedes A. Nosocomial infection and characterization of extended-spectrum β -lactamases-producing Enterobacteriaceae in Northeast Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2011; 44(4): 441-6.

30. Bush K. Alarming β -lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Current Opinion in Microbiology*. 2010; 13(5): 558-64.

31. Ortega M, Marco F, Soriano A, Almela M, Martínez A, Muñoz A. Analysis of 4.758 *Escherichia coli* bacteraemia episodes: predictive factors for isolation of an antibiotic-resistant

strain and their impact on the outcome. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2009; 63(3): 568-74.

32. Hawser SP, Bouchillon SK, Lascols C, Hackel M, Hoban DJ, Badal RE, Woodford N, Livermore DM. Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* isolates from intra-abdominal infections and molecular characterization of ertapenem-resistant isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011; 55(8): 3917-21.

33. Badal RE, Bouchillon SK, Lob SH, Hackel MA, Hawser SP, Hoban DJ. Etiology, extended-spectrum beta-lactamase rates and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacilli causing intra-abdominal infections in patients in general pediatric and pediatric intensive care units—global data from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends 2008 to 2010. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2013; 32(6): 636-40.

34. Eppes CS, Clark SL. Extended-spectrum β -lactamase infections during pregnancy: a growing threat. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2015; 213(5): 650-652.

35. Ariffin H, Navaratnam P, Mohamed M, Arasu A, Abdullah AW, Lee CL, Peng LH. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in children with febrile neutropenia. *International Journal of Infectious Diseases*. 2000; 4(1): 21-25.

36. Coyle, MB. *Manual of Antimicrobial Susceptibility*. American Society for Microbiology. 2005; p. 29.

37. Barenfanger et al. Clinical and Financial Benefits of Rapid Bacterial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999; 37(5): 1415-1418.

38. Sanders et al. Potential Impact of the VITEK 2 System and the Advanced Expert System on the Clinical Laboratory of a University-Based Hospital. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001; 39(7): 2379-2385.

39. Rommler et al, Poster C-123, American Society for Microbiology, May 2006.

40. Oteo J, Pérez-Vázquez M, Campos J. Extended-spectrum [beta]- lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2010; 23(4): 320-6.
41. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Critical Care*. 2010; 14(3): 224.
42. Vila J, Marco F. Interpretive reading of the non-fermenting gram-negative bacilli antibiogram. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2010; 28(6): 726-36.