

# **D**ETECCIÓN *IN VITRO* DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN AISLADOS CLÍNICOS DE *ESCHERICHIA COLI* PROVENIENTES DEL HOSPITAL NACIONAL ZACAMIL DE EL SALVADOR

René Santos  
Claudia Quiteño de Majano

Facultad de Medicina  
Departamento de Microbiología e Inmunología

## CONTENIDO

RESUMEN
INTRODUCCIÓN
II. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN
III. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA
1. Las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS)
2. Determinación de BLEE
3. Relevancia de BLEE en atención de infecciones
IV. OBJETIVOS E HIPÓTESIS
V. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN
1. Ubicación del estudio
2. Tipo de estudio
3. Unidades de análisis
4. Instrumentos de medición
5. Técnicas y procedimientos a emplearse en la recopilación de la información
6. Procesamiento y análisis
VI. RESULTADOS
VII. ANÁLISIS
VIII. CONCLUSIONES
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## RESUMEN

**Introducción.** Cada vez se reducen más las posibilidades de tratamiento debido a la diseminación de resistencia antimicrobiana en bacterias Gram negativas y a la escasez de nuevos medicamentos. Uno de los mecanismos más importantes de resistencia es la producción de enzimas inactivantes, siendo las Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) las de mayor relevancia por el amplio perfil de resistencia que exhiben y por la capacidad de diseminarse a través de elementos transponibles. Conocer el perfil de resistencia asociado a la producción de BLEE en poblaciones microbianas permite diseñar protocolos de atención eficaces que reduzcan la mortalidad. **Objetivo:** Determinar la producción de BLEE en cepas de *Escherichia coli* de pacientes con infecciones provenientes del Hospital Nacional Zacamil, relacionándolo con el perfil de resistencia a los antimicrobianos utilizados. **Método:** Se estudiaron 51 aislados clínicos consecutivos de *Escherichia coli* durante el periodo de enero a mayo de 2015, se determinó resistencia al menos a un antibiótico betalactámico a través de sistema automatizado MicroScan®, y producción de BLEE por método de sinergia de doble disco. **Resultados.** Se encontró que 11 de las muestras corresponden a Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS). La mayoría de pacientes recibieron tratamiento con al menos un antibiótico reportado como resistente por el laboratorio de bacteriología del Hospital, y en varios casos se continuó con la terapia aún después de conocido el resultado del cultivo. Se utilizó con mayor frecuencia ciprofloxacina. **Conclusiones:** La producción de BLEE fue mayor en muestras de pacientes con IAAS. No se tomaron en cuenta resultados del perfil de resistencia para la selección de medicamentos para el tratamiento.

## I. INTRODUCCIÓN

El problema cada vez más frecuente de resistencia a los antimicrobianos en bacterias Gram negativas reduce las posibilidades de protocolos de tratamiento adecuados, debido a la escasez de nuevos medicamentos. Uno de los mecanismos más importantes de resistencia bacteriana, es la producción de enzimas inactivantes, siendo las Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) las de mayor relevancia por el amplio perfil de resistencia que exhiben y por la capacidad de transportar genes de producción de BLEE a través de elementos transponibles. Conocer el perfil de resistencia asociado a la producción de BLEE en la población microbiana de cada establecimiento le permite a los facultativos diseñar protocolos de atención eficaces que reduzcan la morbilidad y mortalidad asociada, a la vez que disminuye el riesgo de selección de cepas multiresistentes. Ante esto se plantea el objetivo de determinar la producción de BLEE en cepas de *Escherichia coli* de pacientes con infecciones de origen nosocomial provenientes del Hospital Nacional Zacamil, correlacionándolo con el perfil de resistencia a los antimicrobianos utilizados en la atención de estas infecciones. Para esto se estudiarán aislados consecutivos de *Escherichia coli* de muestras clínicas de pacientes del Hospital Nacional Zacamil durante el periodo de

enero a mayo del 2015. Se determinará su perfil de resistencia a través de sistema automatizado. Y producción de BLEE por método de sinergia de doble disco. Esperamos encontrar cepas bacterianas con diferente grado de resistencia a los distintos antibióticos, relacionando estos resultados a la producción de BLEE.

## II. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

El descubrimiento fortuito de la penicilina propició el uso generalizado de antibióticos como terapéutica de las infecciones. En las décadas de 1940 a 1970, estos medicamentos vieron su periodo de oro en cuanto a la producción de nuevos fármacos. La industrialización y la comercialización extendida de antibióticos generaron algunas veces un uso injustificado para patologías que no requerían de terapia antibiótica. Además, la falta de regulación, sobre todo en países subdesarrollados, ha llevado a la comercialización sin restricciones de estos medicamentos, en algunos casos como en El Salvador, sin requerir de receta médica para su compra.

Dentro de estos medicamentos, aquellos que están conformados en su estructura química por el anillo betalactámico son los más abundantes y los más utilizados para el tratamiento de infecciones bacterianas, producidas tanto por bacterias Gram positivas como negativas.

Su amplia variedad de preparados comerciales, la disponibilidad de presentaciones de uso oral, su relativo bajo costo y su amplio espectro de acción, son elementos que propician el uso frecuente de estos antimicrobianos.

Sin embargo, las bacterias exhiben una variedad de mecanismos de resistencia a estos medicamentos, como pueden ser la producción de enzimas inactivantes, bombas de expulsión, mutaciones en las proteínas fijadoras de penicilina (PBP) y la impermeabilidad de la bacteria al antibiótico,<sup>(1)</sup> siendo uno de los más frecuentes la producción de enzimas inactivantes de tipo Betalactamasa.<sup>(2)</sup> Estas enzimas, junto con las PBP, conforman una familia de enzimas que poseen un sitio activo capaz de interactuar con los antibióticos Betalactámicos, produciendo hidrólisis, lo que lleva a la inactivación del compuesto.<sup>(1)</sup>

A principios de 1980, Shah y Brunn-Buisson fueron los primeros en describir Betalactamasas de transmisión plasmidial en Europa, con capacidad de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación, apenas dos años después de la introducción de estos medicamentos.<sup>(3)</sup> Estas enzimas se denominaron Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), y desde esa fecha, se han reportado en casi todo el mundo. Actualmente se conocen más de trescientos tipos diferentes de BLEE.

Este creciente problema representa un alto costo en la atención de pacientes, ocasionando un aumento significativo de la estancia hospitalaria y de la mortalidad

asociada a infecciones multiresistentes, y en el caso específico de infecciones por enterobacterias productoras de BLEE, aproximadamente 1.7 veces mayor costo de atención y estancia hospitalaria que en pacientes por infecciones de agentes no productores de BLEE.<sup>(4)</sup>

La presencia de BLEE es una característica frecuente en cepas resistentes de *Escherichia coli* asociada a infecciones del tracto urinario. Y dentro de éstas, la principal BLEE asociada es de tipo cefotaximasa (CTX-M), la cual está relacionada con bacteremia nosocomial.<sup>(5)</sup>

Existen reportes de antibióticos de tipo quinolonas frecuentemente utilizados en nuestro medio para el tratamiento de infecciones del tracto urinario y respiratorio que son altamente selectores de cepas de Enterobacterias productoras de BLEE, que al ser tratadas con estos medicamentos aumentan significativamente la mortalidad.<sup>(6)</sup>

A nivel mundial, se generan reportes frecuentes de infecciones provocadas por cepas productoras de BLEE, y muchos establecimientos de salud orientan sus protocolos de tratamiento en base al conocimiento de la ecología microbiana de cada establecimiento, lo que reduce significativamente los costos de atención y ayuda a prevenir la diseminación de estas cepas.<sup>(7)</sup>

En bacterias productoras de BLEE, la resistencia mostrada a las cefalosporinas de tercera generación es variable, y estas cepas pueden presentarse como susceptibles, apareciendo la resistencia al antibiótico durante el curso del tratamiento. Además de la resistencia mostrada a cefalosporinas de tercera y cuarta generación, penicilinas de amplio espectro y aztreonam, estas bacterias productoras de BLEE también presentan genes de resistencia a otros antibióticos, fenómeno conocido como reacción cruzada.<sup>(2, 3, 8, 9)</sup> De esta manera, al ejercer presión selectiva sobre estas cepas productoras de BLEE utilizando antibióticos betalactámicos, también se seleccionan cepas resistentes a otros antibióticos, lo que disminuye aún más las opciones terapéuticas.

Sin embargo, aun cuando la Organización Mundial de la Salud determinó el año 2012 como el año de la prevención de la Resistencia a antimicrobianos, en El Salvador no se reportan estudios actualizados respecto a este problema, lo que vuelve necesario la identificación de cepas productoras de BLEE con el objetivo de sustentar con evidencia de laboratorio la necesidad de establecer protocolos de uso racional de antibióticos.

El conocimiento basado en datos propios de cada establecimiento permitirá valorar los protocolos de atención, a fin de que el clínico pueda establecer las mejores pautas de tratamiento, y de esta forma prevenir la diseminación de la resistencia asociada a BLEE y reducir los efectos relacionados a las infecciones multiresistentes, disminuyendo la mortalidad y morbilidad.

Ante esto, se plantea el siguiente problema de investigación:

¿Existen cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE provenientes de muestras clínicas obtenidas del Hospital Nacional Zacamil en relación con el perfil de resistencia *in vitro* mostrado?

### III. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

La resistencia bacteriana puede estar mediada por diferentes mecanismos, y en Enterobacterias, los mecanismos que determinan la resistencia son alteraciones de la permeabilidad, enzimas inactivantes, modificación del sitio blanco del antibiótico y bombas de expulsión.<sup>(10)</sup> De éstos, la producción de enzimas tipo Betalactamasas es el más importante en clínica. De ahí que la identificación de cepas productoras de betalactamas es prioritario para la elección de tratamientos adecuados ante las infecciones por microorganismos Gram negativos.

Las Enterobacterias son agentes causales frecuentes de enfermedad, relacionados a infecciones diversas tanto de origen comunitario como nosocomial. Algunos como *Escherichia coli*, presente en la microbiota normal de múltiples especies de animales, incluyendo el humano, puede encontrarse ocasionando infecciones tanto intestinales como extraintestinales, siendo el principal agente causal de infecciones del tracto urinario.<sup>(11, 12)</sup> En El Salvador, las Infecciones del Tracto Urinario (ITU) representan la tercera causa de consulta en los centros hospitalarios en pacientes adultos, según el reporte de: “Diez primeras causas de consulta ambulatoria, consolidado a septiembre 2013 del Ministerio de Salud”, y la primera causa de mortalidad en los hospitales de la red nacional como “resto de enfermedades genitourinarias”, con 271 muertes para el periodo de enero a junio del 2014 (Unidad de Estadística e información de Salud, MINSAL 2014). Las ITU representan una de las principales causas de consulta por infecciones y, cuando son de origen intrahospitalario, aumentan significativamente los costos de atención y el riesgo de morbilidad y mortalidad.<sup>(11)</sup>

#### 1. Las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS)

Las IAAS -o infecciones nosocomiales o intrahospitalarias, como se conocían anteriormente- se definen como una infección localizada o sistémica que se desencadena a partir de una reacción adversa a la presencia de uno o varios agentes infecciosos o sus toxinas, sin que haya evidencia de su presencia previa a la admisión en el centro de atención en salud respectivo. Se considera una IAAS si se manifiesta la infección al menos 48 horas después de la admisión al centro de atención. Las ITU intrahospitalarias representan aproximadamente el 35% de las IAAS.<sup>(13)</sup>

El normativo “Lineamientos para el control de Infecciones en la atención Sanitaria 2010” del Ministerio de Salud de El Salvador, establece que la vigilancia de dichas patologías debe ser un proceso de carácter permanente, y en coordinación con el Comité Farmaco-Terapéutico de cada establecimiento, con el objetivo de mejorar el uso de antibióticos y reducir gastos. Ante esto, la identificación de cepas de *Escherichia coli* provenientes de pacientes con IAAS, y en la cual se pueda establecer el riesgo de multiresistencias a través de la expresión de BLEE, es prioritario para mejorar el uso de los antimicrobianos en los diferentes establecimientos de salud.

## 2. Determinación de BLEE

La resistencia a un antimicrobiano se define como la capacidad de un microorganismo para crecer en presencia de ese medicamento a dosis terapéuticas.<sup>(14)</sup> Dentro de los múltiples mecanismos de resistencia que las Enterobacterias pueden exhibir, la producción de enzimas inactivantes tipo betalactamasas es el más frecuente. Estas enzimas actúan sobre medicamentos de tipo betalactámicos, hidrolizando el enlace amida del anillo betalactámico, inactivando estos medicamentos. En la actualidad se conocen más de 300 tipos diferentes.<sup>(7, 15)</sup>

La mayoría han evolucionado como resultado de mutaciones, sin embargo, existe un grupo de betalactamasas de transmisión plasmidial que poseen un mayor espectro de acción sobre diferentes medicamentos betalactámicos, que incluye cefalosporinas de tercera generación y monobáctamicos como aztreonam. Este grupo se denominan Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), y su rápida diseminación alrededor del mundo -entre diversos agentes bacterianos Gram negativos- las convierten en un problema grave de salud pública a nivel mundial.<sup>(16, 17)</sup>

La diseminación de estas enzimas se debe probablemente a que el gen de resistencia (*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, entre otros) es frecuentemente transportado en plásmidos autotrasferibles dentro de bacterias de la misma especie y de especies diferentes, de tal manera que -según el reporte del proyecto SENTRY, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, que presentaban fenotipo de BLEE- fueron más frecuentes en América Latina.<sup>(16)</sup>

Existen múltiples técnicas para detectar BLEE en Gram negativos, los cuales se basan en la capacidad del ácido clavulánico para incrementar la actividad de una cefalosporina de tercera generación.

En la actualidad se utiliza la metodología recomendada por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2013), que utiliza método de doble disco como estándar para detección de BLEE. Este método ha sido estandarizado para *Escherichia coli* y *K. pneumoniae*. Se realiza de forma similar al método convencional de difusión en agar Mueller-Hinton, con un inóculo Mac Farland 0,5 y ensayando 4 discos: ceftazidima, ceftazidima más ácido clavulánico, cefotaxima y cefotaxima más ácido

clavulánico. Se incuba normalmente en atmósfera normal durante 18 hrs a 37°C. Se miden los halos de inhibición en forma convencional. El aumento del halo en más de 5 mm con los discos conteniendo la mezcla de cefalosporina y ácido clavulánico en relación al disco de cefalosporina sola, para las dos o al menos uno de las dos cefalosporinas, se considera confirmatorio para la presencia de BLEE.<sup>(3, 16, 18)</sup>

### 3. Relevancia de BLEE en atención de infecciones

Las infecciones por bacterias productoras de BLEE tienen un impacto económico negativo porque el cuidado de los pacientes con estas infecciones es más caro. Se estima que los gastos de hospitalización cuando se trata de infecciones por *E. coli* productora de BLEE son 1,7 veces superiores que en aquellos pacientes con infecciones no productoras de BLEE, además de un aumento en los días de estancia hospitalaria que pueden llegar en promedio 9 días más en el caso de infecciones por *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE comparado con cepas no productoras.<sup>(4,19)</sup> En un país como El Salvador, donde aproximadamente el 80% de la cobertura de salud está proporcionada por el Sistema Público, esto representa un costo importante en la economía de la nación.

Además, es importante resaltar el impacto negativo que estas infecciones tienen en el pronóstico clínico del paciente. En estudios de series de caso en infecciones por *E. coli* productora de BLEE, se reporta un aumento en la mortalidad de los pacientes de alrededor del 19% a los 30 días de infección, con respecto a infecciones por cepas no productoras, así como fracaso terapéutico en el 33% de los casos.

Tomando en cuenta el volumen de casos de infecciones por bacterias productoras de BLEE en el impacto en la economía y el pronóstico clínico, el conocimiento de las características microbiológicas de las poblaciones bacterianas de cada establecimiento contribuye a diseñar protocolos de atención que reduzcan la diseminación de resistencia y, por lo tanto, también los costos y la mortalidad asociada a estas infecciones.

## IV. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

En este contexto se plantea la siguiente hipótesis:

Existen cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE provenientes de muestras clínicas obtenidas de pacientes del Hospital Nacional Zacamil.

### Objetivo general:

Determinar la producción de BLEE en cepas de *Escherichia coli* de pacientes con infecciones provenientes del Hospital Nacional Zacamil.

### Objetivos específicos:

- Aislar *Escherichia coli* a partir de muestras clínicas de pacientes provenientes del Hospital Nacional Zacamil.
- Determinar el perfil de resistencia a diferentes antibióticos en las cepas de *Escherichia coli* aislada.
- Determinar in vitro la producción de BLEE en las cepas de *Escherichia coli*.
- Correlacionar resultados de producción de BLEE con el perfil de resistencia mostrado por las diferentes cepas de *Escherichia coli*.

## V. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### 1. Ubicación del estudio

El estudio se realizó en dos sitios: El Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Evangélica de El Salvador y en el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Nacional Zacamil del Ministerio de Salud de El Salvador, durante los meses de febrero a mayo del año 2015.

### 2. Tipo de estudio:

Estudio de tipo descriptivo, de corte transversal, que se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Evangélica de El Salvador y en el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Nacional Zacamil del Ministerio de Salud.

### 3. Unidades de análisis

#### a) Cepas bacterianas

Se analizaron cepas de *Escherichia coli* provenientes de muestras clínicas de diferentes sitios anatómicos de pacientes, obtenida en los diferentes servicios de hospitalización del Hospital Nacional Zacamil.

Las muestras se recolectaron durante los meses enero a mayo del año 2015, hasta obtener un total de 51 muestras. Se incluyeron aislados consecutivos de *Escherichia coli* proveniente de muestras de pacientes con cuadro clínico compatible con Infección Asociada a la Atención en salud de origen intrahospitalario, definiéndola como toda infección del que no haya estado presente al momento del ingreso al hospital y que se haya desarrollado después de 48 horas de estancia hospitalaria.<sup>(11, 20)</sup>



**b) Criterios de inclusión de muestra:**

- Sexo femenino y masculino.
- Ingresados al momento de la toma de la muestra en cualquiera de los servicios de hospitalización del Hospital Nacional Zacamil.
- Muestras recolectadas dentro del periodo de febrero a mayo del año 2015.
- Aislamiento de *E. coli* por metodología estándar del centro.
- Resistencia al menos un medicamento betalactámico, según puntos de corte establecidos por CLSI 2013.

**c) Criterios de exclusión:**

- Pacientes menores de 18 años.
- Si en la muestra se aísla más de una especie de microorganismo diferente por metodología estándar para cada centro.
- Que el paciente no se encuentre ingresado al momento de la toma de su muestra.
- Cepa de *E. coli* susceptible a todos los betalactámicos ensayados.
- Muestras reportadas fuera del periodo de recolección de muestra en cada centro.

El Laboratorio de Bacteriología utilizó la metodología habitual para aislamiento y clasificación de género y especie, y determinación del perfil de resistencia a antimicrobianos a través del sistema MicroScan®.

Se utilizó la cepa ATCC 25922 como cepa control, según propone el *Clinical and Laboratory Standards Institute*.<sup>(21)</sup>

**4. Instrumentos de medición**

Para la identificación y aislamiento de *E. coli* en cada establecimiento, se utilizó el equipo y el procedimiento estandarizado por cada centro para este fin.

Para la confirmación de especie y determinación de resistencia, se utilizó el equipo de la división de Bacteriología del Laboratorio Clínico del Hospital Nacional Zacamil del Ministerio de Salud, con Prompt™\* Inoculation Sistem-D para equipo MicroScan®.

Para la determinación de BLEE y de los diferentes aislados se utilizó el equipo de laboratorio para investigación en bacteriología del Departamento de Microbiología de la Universidad Evangélica de El Salvador.

## 5. Técnicas y procedimientos a emplearse en la recopilación de información

### a) Estudio de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se determinó la CMI de los siguientes antibióticos: amikacina, amoxicilina/ac. clavulánico, ampicilina/sulbactam, ampicilina, aztreonam, cefalotina, cefazolina, cefepima, cefotaxima, cefotaxima/a clavulánico, cefotetan, ceftazidima, ceftazidima/a clavulánico, ceftriaxona, ciprofloxacina, ertapenem, gentamicina, imipenem, levofloxacina, meropenem, moxifloxacina, nitrofurantoina, piperacilina/tazobactam, tetraciclina, ticarcilina/a clavulánico, tobramicina, trimetoprim/sulfametoxazol. A partir del Sistema de Inoculación Prompt™-D analizado con sistema MicroScan®. Se utilizaron puntos de corte de acuerdo a recomendaciones de CLSI.<sup>(21)</sup>

A partir de un cultivo puro de *Escherichia coli* proveniente de la muestra clínica, se extrae el equivalente a tres colonias aisladas con la varilla de inoculación y se colocan junto con la varilla en la botella de inoculación del sistema Prompt™. Una vez realizado esta suspensión, se vierte en el inoculador.

La inoculación se llevó a cabo con el sistema RENOK® con inoculadores D. La concentración final en cada pocillo fue de 3-7x10<sup>5</sup> UFC/ml, según especificaciones del fabricante. Los paneles fueron incubados con el sistema WalkAway® y leídos a través del instrumento MicroScan® después de 18 a 20 horas de incubación.

La CIM se registró como la concentración antimicrobiana más baja que muestra inhibición del crecimiento. Cuando hay crecimiento en todas las concentraciones de un antimicrobiano, la CIM se registra como “superior a” (>) la concentración más alta.

Cuando no hay crecimiento en ninguna de las concentraciones de los antimicrobianos, la CIM se registra como “menor o igual a” (≤) la concentración más baja.

### b) Determinación de BLEE

Se determinó el perfil de resistencia y la producción de Betalactamasa de Espectro Extendido para cada cepa a partir del sistema automatizado de estudio.

Se confirmó la producción de BLEE utilizando los criterios del CLSI, utilizando la técnica de difusión en agar con doble disco.<sup>(21)</sup>

Se realizó de forma similar al método convencional de difusión en agar Mueller-Hinton, con un inóculo Mac Farland 0,5 y ensayando 4 discos: ceftazidima, ceftazidima más ácido clavulánico, cefotaxima y cefotaxima más ácido clavulánico. Se incubaron normalmente en atmósfera normal durante 18 horas a 37°C. Posteriormente se midieron los halos de inhibición en forma convencional. El aumento del halo en más

de 5 mm con los discos conteniendo la mezcla de cefalosporina y ácido clavulánico en relación al disco de cefalosporina sola, para las dos o al menos uno de las dos cefalosporinas, se considera confirmatorio para la presencia de BLEE.<sup>(3, 16, 18)</sup>

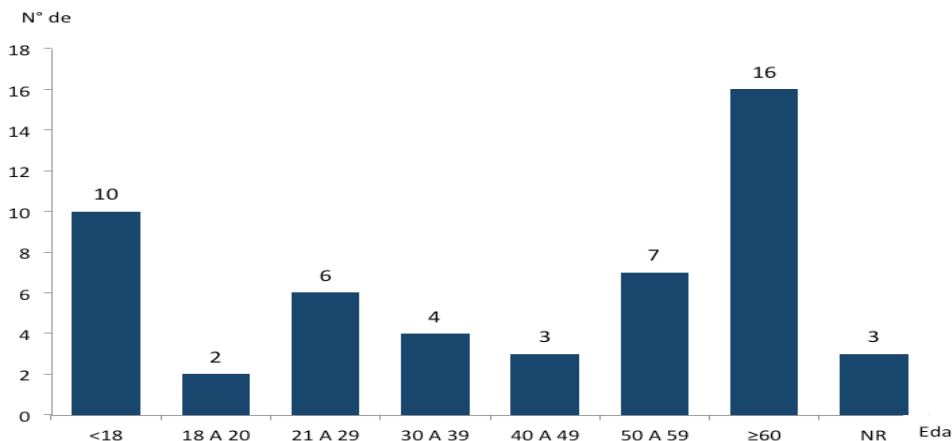
## 6. Procesamiento y análisis

Los resultados obtenidos se tabularon utilizando una matriz en hoja electrónica Excel 2010, registrando las diferentes variables para cada cepa estudiada. Los ensayos de susceptibilidad a los diferentes antibióticos se realizarán en duplicado. Estos resultados se relacionarán con las diferentes variables y se realizaron pruebas de contingencia estadística.

## VI. RESULTADOS

Se recolectaron 51 muestras provenientes de los diferentes servicios de encamados del Hospital Nacional Zacamil, de las cuales 38 corresponden a pacientes mayores de 18 años, con infecciones resistentes al menos a un antibiótico del tratamiento convencional según protocolo del Hospital, lo cual fue determinado por método automatizado. Estas muestras fueron recolectadas en el periodo de enero a mayo del año 2015. Y fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Evangélica de El Salvador, en el periodo de marzo a junio del 2015.

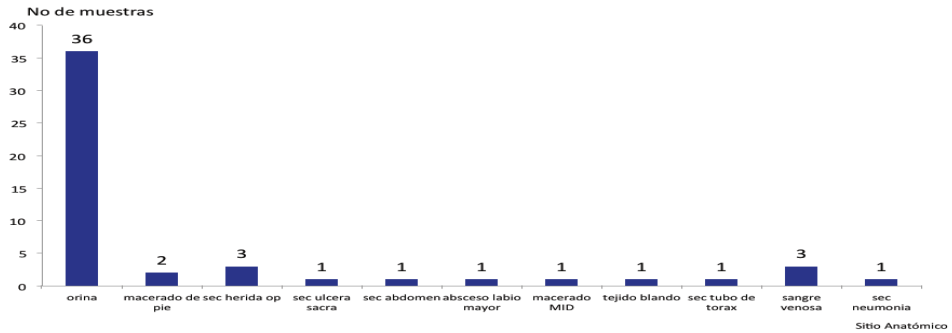
Gráfico N° 1. Distribución de muestras por edades de pacientes



Del total de 51 muestras analizadas, 11 corresponden a infecciones asociadas a la atención en salud, ya que cumplen el criterio de haber iniciado en las 48 horas posteriores a su ingreso hospitalario con diagnóstico de ingreso diferente al de la infección. No se pudo determinar el origen de la infección en 16 de las muestras,

ya que los expedientes no se encontraban en el sistema de archivo. La muestra que más frecuentemente se obtuvo fue de orina para urocultivo.

**Gráfico N° 2. Distribución de aislamientos por tipo de muestra**



La mayoría de muestras corresponden a pacientes del sexo femenino mayores de 60 años de edad, ingresados en el servicio de medicina interna.

De las 51 muestras, 23 de las muestras se recolectaron de pacientes del servicio de Medicina Interna, seguido por 14 muestras de pacientes del servicio de Gineco-Obstetricia, 8 de Cirugía General, 5 muestras de Pediatría y 1 muestra proveniente del Servicio de Bienestar Magisterial.

**Gráfico N° 3. Distribución de muestras por sexo de pacientes**

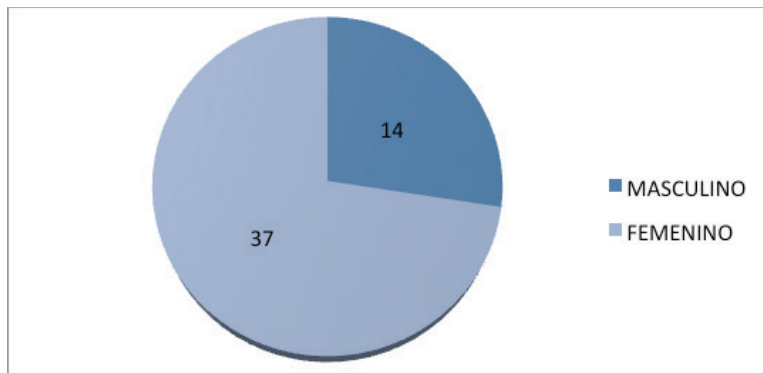


Tabla 1. Valores de CIM de los diferentes aislados clínicos de *Escherichia coli* para los antibióticos estudiados

Cepa	AMC	SAM	AMP	ATM	CEP	CZO	FEP	CTX	CTT	FOX	CAZ	CRO	CXM
EC-01	16/8	16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-02	≤8/4	16/8	>16	≤8	≤8	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-03	≤8/4	≤8/4	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-04	≤8/4	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-05	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-06	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-07	>16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	>16	>16	>32	>16
EC-08	≤8/4	16/8	>16	≤8	>16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	8
EC-09	≤8/4	≤8/4	≤8	≤8	16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-10	16/8	>16/8	>16	≤8	>16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-11	16/8	>16/8	>16	≤8	16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-12	>16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-13	≤8/4	16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-14	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-15	16/8	>16/8	>16	>16	>16	16	>16	>32	>32	>16	>16	>32	>16
EC-16	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-17	>16/8	16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-18	16/8	16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-19	16/8	>16/8	>16	≤8	>16	>16	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-20	≤8/4	>16/8	>16	>16	>16	>16	<16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-21	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-22	≤8/4	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-23	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-24	≤8/4	≤8/4	≤8	≤8	16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	8
EC-25	16/8	>16/8	>16	≤8	>16	>16	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-26	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-27	>16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-28	>16/8	>16/8	>16	>16	<16	>16	>16	>32	≤16	16	>16	>32	>16
EC-29	≤8/4	>16/8	>16	≤8	>16	≤8	≤8	≤2	≤16	>16	4	≤8	>16
EC-30	16/8	>16/8	>16	≤8	16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-31	≤8/4	>16/8	>16	≤8	16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-32	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	16	>16	>32	>16
EC-33	≤8/4	>16/8	>16	≤8	16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤	≤1	≤8	≤

EC-34	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-35	≤8/4	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-36	>16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	16	>16	>32	>16
EC-37	≤8/4	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-38	16/8	16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-39	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-40	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-41	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-42	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	16	>16	>32	>16
EC-43	16/8	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	16	>16	>32	>16
EC-44	16/8	>16/8	>16	≤8	16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	8
EC-45	≤8/4	>16/8	>16	≤8	>16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-46	≤8/4	16/8	>16	≤8	>16	≤8	≤8	≤25	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-47	≤8/4	16/8	>16	≤8	≤8	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4
EC-48	≤8/4	16/8	>16	≤8	>16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	8
EC-49	≤8/4	16/8	>16	≤8	16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	4	≤8	≤4
EC-50	≤8/4	>16/8	>16	>16	>16	>16	>16	>32	≤16	≤8	>16	>32	>16
EC-51	≤8/4	>16/8	<16	≤8	>16	≤8	≤8	≤2	≤16	≤8	≤1	≤8	≤4

AMC: amoxicilina/ac.clav; SAM: ampicilina/sulbactam; AMP: ampicilina; ATM: aztreonam; CEP: cefalotina; CZO: cefazolina; FEP: cefepime;

CTX: cefotaxima; CTT: cefotetan; FOX:cefoxitina; CAZ: ceftazidima; CRO: ceftriazona; CXM: cefuroxima

**Tabla 2. Resultado valores de CIM 50 y 90 de los antibióticos estudiados para los diferentes aislados clínicos de *Escherichia coli***

Antibiótico	Rango	CIM (μgr/ml)		Puntos de corte		
		50%	90%	S	I	R
AMK	≤16 a > 32	≤ 16	32	≤16	32	≥64
AMC	≤8/4 a >16/8	≤8/4	>16/8	≤8/4	16/8	≥32/16
SAM	≤8/4 a >16/8	>16/8	>16/8	≤8/4	16/8	≥32/16
AMP	≤8 a >16	>16	>16	≤8	16	≥32
ATM	≤8 a >16	>16	>16	≤4	8	≥16
CEP	≤8 a >16	>16	>16	≤8	16	≥32

CZO	≤8 a >16	>16	>16	≤1	2	≥4
FEP	≤8 a >16	>16	>16	≤8	13	≥32
CTX	≤2 a >32	>32	>32	≤1	2	≥4
CAC	≤0.5 a >4	≤0.5	≤0.5	Test de	BLEE	
CTT	≤16 a >32	≤16	≤16	≤16	32	≥64
FOX	≤8 a >16	≤8	16	≤8	16	≥32
CAZ	≤1 a >16	>16	≤16	≤4	8	≥16
CAC	≤0.25 a >2	≤0.25	>2	Test de	BLEE	
CRO	≤8 a >32	>32	>32	≤1	2	≥4
CXM	≤4 a >16	>16	>16	≤8	16	≥32
CIP	≤1 a >2	>2	>2	≤1	2	≥4
EPM	≤2 a >4	≤2	≤2	≤0.25	0.5	≥1
GEN	≤4 a >8	>8	>8	≤4	8	≥16
IMP	≤4	≤4	≤4	≤1	2	≥4
LEV	≤2 a >4	>4	>4	≤2	4	≥8
MER	≤4	≤4	≤4	≤1	2	≥4
MOX	≤2 a >4	>4	>4	ND	ND	ND
NIT	≤32 a >64	≤32	≤32	≤32	64	≥128
					32/4 -	
PIC	≤16 a >64	≤16	64	≤16/4	64/4	≥128/4
TET	≤4 a >8	>8	>8	≤4	8	≥16
					32/2 -	
TAC	≤16 a >64	64	64	≤16/2	64/2	≥128/2
TOB	≤8 a >8	>8	>8	≤4	8	≥16
COX	≤2/38 a >2/38	>2/38	>2/38	≤2/38	ND	≥4/76

AMK: amikacina; AMC: amoxicilina/ac.clav; SAM: ampicilina/sulbactam; AMP: ampicilina; ATM: aztreonam; CEP: cefalotina; CZO: cefazolina

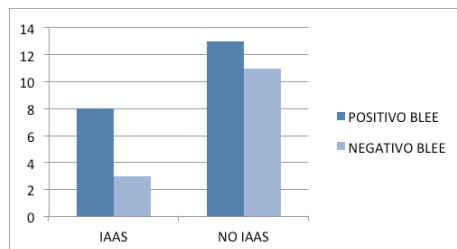
FEP: cefepime; CTX: cefotaxima; CTC: cefotaxima/ac.clav; CTT: cefotetan; FOX: cefoxitina; CAZ: ceftazidima; CAC: ceftazidima/ac.clav; CRO: ceftriazona

CRO: ceftriazona; CXM: cefuroxima; CIP: ciprofloxacina; EPM: ertapenem; GEN: gentamicina; IMP: imipenem; LEV: levofloxacina; MER: meropenem

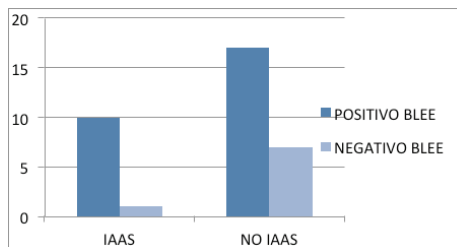
MOX: moxifloxacina; NIT: nitrofurantoina; PIC: piperacilina/tazobactam; TET: tetraciclina; TAC: ticarcilina/ac.clav; TOB: tobramicina; COX: Trim/sulfam.

Todas las muestras recolectadas reflejan valores de CIM, correspondientes a resistencia a por lo menos un antibiótico betalactámico, como puede observarse en la Tabla N° 1, correspondiente al valor de CIM 50 y 90 de cada uno de los antibióticos analizados. Se relacionó estadísticamente el resultado de producción de BLEE determinado por el método automatizado del Hospital y por el método de doble disco realizado en el Laboratorio de la Universidad Evangélica de El Salvador, en muestras de pacientes con y sin IAAS. Para esto se calculó CHI cuadrada a través del paquete estadístico de EXCEL 2010, utilizándose un valor de  $p < 0.05$ . Al realizar la prueba de  $\chi^2$ , el valor de  $p$  fue 0.00000293 para el test de doble disco. Este valor confirma la significancia de los resultados de la prueba.

**Gráfico 4. Determinación de cepas productoras de BLEE a partir de método automatizado**



**Gráfico 5. Determinación de cepas productoras de BLEE a partir de método de doble disco**



De los 51 expedientes analizados de pacientes con infecciones resistentes a algún betalactámico, se verificó que la mayoría recibieron tratamiento con al menos un antibiótico reportado como resistente por el laboratorio de bacteriología del Hospital, y en varios casos se continuó con la terapia aun después de conocido el resultado del cultivo.

El antibiótico que se utilizó con mayor frecuencia para el tratamiento de infecciones resistentes fue ciprofloxacina, seguido de ceftriazona y clindamicina. Algunos de los pacientes incluso recibieron terapia combinada de antibióticos con dos o tres medicamentos a los cuales el cultivo reportaba como resistente. Sin embargo, la mayoría de los pacientes estudiados fue reportado como “con mejoría clínica” al momento de su alta hospitalaria.



**Tabla 3. Antibióticos utilizados para el tratamiento de infecciones relacionadas a *Escherichia coli* productora de BLEE**

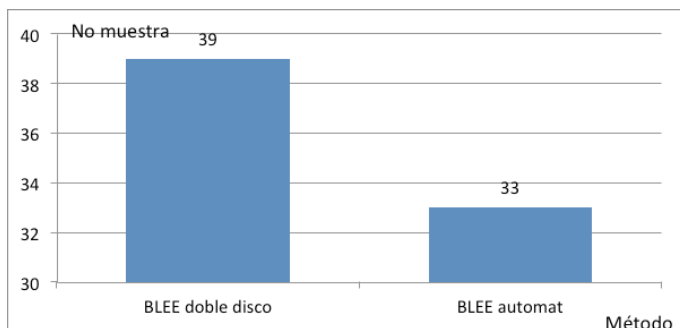
Antibiótico	Pacientes
AMP	5
SAM	1
PEN	3
AMC	5
AMK	3
DIC	1
CLR	1
FOS	1
CRO	11
CTX	2
CZO	1
CIP	15
MTZ	4
CLI	8
MEM	1
DOR	2
NIT	2
COX	3
CHL	2

AMP= ampicilina; SAM: ampicilina/sulbactam; PEN: penicilina; AMC: amoxicilina/ac.clav; AMK: amikacina; DIC: dicloxacilina; CLR: claritromicina; FOS: fosfomicina; CRO: ceftriazona; CTX: cefotaxima; CZO: cefazolina; CIP: ciprofloxacina; MTZ: metronidazol; CLI: clindamicina; MEM: meropenem; DOR: doripenem; NIT: nitrofurantoina; COX: trimetropim/sulfametoxazol; CHL: cloranfenicol

La verificación de la producción de BLEE de cada aislado por medio de la técnica de doble disco permitió identificar 6 aislados positivos a BLEE más que a través de microdilución por medio del equipo automatizado. Sin embargo, del total de muestras positivas a BLEE identificadas por el sistema MicroScan®, tres resultaron negativas a través del método de doble disco. Por otro lado, diez de las muestras identificadas por el sistema MicroScan como negativas a BLEE resultaron positivas a partir del método de doble disco. Además, en los resultados obtenidos de la CIM

a los diferentes antibióticos betalactámicos en estudio, el noventa por ciento de los aislados presentan valores de CIM correspondiente a pérdida de la susceptibilidad, incluyendo medicamentos como ceftriazona y cefotaxima y cefuroxima.

**Gráfico 6. Cepas productoras de BLEE aisladas del Hospital Zacamil por medio de sistema automatizado y test de doble disco**



## VII- ANÁLISIS

El fenómeno de resistencia bacteriana es un problema frecuente entre los pacientes que desarrollan infecciones nosocomiales, sobre todo cuando su enfermedad de base supone un compromiso inmunológico que los vuelve vulnerables a infecciones oportunistas o por microorganismos intrahospitalarios.

Las medidas de contingencia y aislamiento de pacientes son estrategias útiles que permiten el control y diseminación de microorganismos intra e interhospitalarios; sin embargo, debido a la alta demanda en los servicios públicos, esto no siempre es posible. La rotación de pacientes de hospitales o servicios de salud de menor complejidad a otros de nivel superior de complejidad permite el traslado de cepas multiresistentes si no se cumplen las medidas de contingencia adecuada. Además, el incumplimiento de las normas de bioseguridad y de procedimientos tan básicos, como los 5 momentos del lavado de mano entre el personal de salud, contribuye a la diseminación de microorganismos patógenos en los servicios hospitalarios. A estas condiciones se suma la terapéutica inadecuada. La utilización de antibióticos con poder selectivo de cepas multiresistentes en infecciones por microorganismos con potencial de multiresistencia es un problema frecuente en la terapéutica clínica.

Las características de la Microbiota de cada establecimiento de salud es muy particular, y estas características determinan en gran parte el éxito o fracaso de los medicamentos utilizados “empíricamente”. Muchos medicamentos que se utilizan como “de amplio espectro” para el tratamiento de infecciones adquiridas en la comunidad pueden seleccionar cepas multiresistente, como es el caso de quinolonas como ciprofloxacina, o cefalosporinas de tercera generación como ceftriazona. La utilización de estos fármacos de forma generalizada sin el conocimiento de los

patrones de resistencia de los microorganismos residentes de un establecimiento supone un alto riesgo de selección de cepas multiresistentes. El riesgo se vuelve mayor si se utilizan medicamentos en cepas que claramente expresan patrones de resistencia a dicho fármaco.

En este estudio pudimos comprobar que en la mayoría de los pacientes con infecciones por microorganismos resistentes, ya sea en infecciones comunitarias o asociadas a la atención en salud, se utilizó al menos un medicamento que durante las pruebas de susceptibilidad presentó valores de resistencia. Se reporta que en 11 de los pacientes con IAAS del estudio se utilizó ceftriazona como tratamiento para su infección, y en 15 se utilizó ciprofloxacina, a pesar que en el reporte del laboratorio del Hospital se indica la pérdida de susceptibilidad a uno u otro de estos fármacos.

La mayoría de estos pacientes presentaron mejoría clínica, probablemente debido a la utilización de terapias combinadas en las cuales se eligió al menos un medicamento para el cual el microorganismo era susceptible. Sin embargo, el efecto de presión selectiva generado por la utilización de medicamentos que estimulan la producción de BLEE eleva el riesgo de seleccionar cepas multiresistentes en el establecimiento.

A pesar de que el establecimiento de salud cuenta con laboratorio de bacteriología y se realizan pruebas rutinarias de susceptibilidad microbiana a través de métodos automatizados, estos resultados no siempre se toman en consideración a la hora de decidir la terapéutica a utilizar. Esto puede estar influenciado por la disponibilidad de medicamentos en el establecimiento.

Sin embargo, para este estudio -en el cual se determinó la producción de BLEE por dos métodos diferentes (método automatizado por MicroScan® y el método de doble disco)-, se pudo comprobar un mejor rendimiento en la detección de BLEE por el método de doble disco, pudiendo determinar positividad en 6 aislados clínicos más que en el método automatizado. Esto es acorde a las recomendaciones del CLSI que establece la confirmación de resultados por el método manual.

Es importante mencionar también que al comparar la determinación de BLEE en muestras de pacientes con IAAS y No IAAS, existe una marcada diferencia al hallazgo mayor de infecciones producidas por *Escherichia coli* productora de BLEE en pacientes con IAAS en comparación a aquellas infecciones de origen comunitario. En este sentido, el riesgo de falla terapéutica y de desarrollar complicaciones ocasionadas por IAAS es mayor. A esto debe de sumarse el costo de atención, ya que esto repercute en más días de estancia hospitalaria y más dosis de antibióticos indicados, con un mayor riesgo de mortalidad asociada a la infección.

Un dato relevante de analizar es que la mayoría de aislamientos positivos a *Escherichia coli* identificada en el estudio corresponde a muestras de orina. Esto debido probablemente a que la infección que mayormente se asocia a IAAS es la infección

del tracto urinario. Estas infecciones por *E. coli* reportan una CIM 90 con valores que corresponden a pérdida de la susceptibilidad a los medicamentos betalactámicos utilizados, incluyendo cefalosporinas de tercera generación, así como aminoglicosidos como gentamicina y amikacina y quinolonas como levofloxacin. Sin embargo, se reportan valores de CIM 90 de susceptibilidad a nitrofurantoina, pero este medicamento solamente fue indicado en dos de los pacientes que reportaron infecciones por *E. coli* productora de BLEE. Esto refleja una tendencia entre los facultativos del Hospital a indicar tratamientos empíricos utilizando cefalosporinas de 3° generación, aminoglicosidos o quinolonas para el tratamientos de infecciones del tracto urinario de forma rutinaria, a pesar de los niveles elevados de resistencia reportada en los aislamientos clínicos de *E. coli* del estudio.

Existe la necesidad de ampliar el estudio sistemático de infecciones por microorganismos resistentes, sobre todo en infecciones asociadas a la atención en salud. Pero más importante aún es que los resultados sean tomados en cuenta por el equipo de clínicos a fin decidir cuáles son las opciones terapéuticas más adecuadas para la elección de los antibióticos a utilizar. Los estudios de clasificación de la ecología microbiana de cada establecimiento, de los rasgos de susceptibilidad y la determinación tanto fenotípica como genotípica de los patrones de resistencia de los principales microorganismos asociados a las infecciones intrahospitalarias son necesarios, y sus resultados deben de considerarse al momento de establecer los protocolos de uso de antimicrobianos con el objeto de reducir la resistencia, y sobre todo mejorar el pronóstico de los pacientes. Al final, esto repercute en una reducción de los costos de la atención que permite un eficiente uso de los recursos para la salud.

## VIII. CONCLUSIONES

- La mayoría de muestras de *Escherichia coli* analizadas expresan producción de betalactamasas de espectro extendido.
- La producción de betalactamasas de espectro extendido fue mayoritariamente evidenciado en muestras provenientes de pacientes con infecciones asociadas a la atención en salud.
- El test de doble disco resultó más eficaz para la detección de betalactamasas de espectro extendido en comparación con el método automatizado.
- No se tomaron en cuenta resultados del perfil de resistencia para la selección de medicamentos para el tratamiento de estas infecciones.
- Mayoritariamente se trataron infecciones por *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido con medicamentos que estimulan la selección de multiresistencia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barcelona L, Marín M, Stamboulian D. Betalactámicos con Inhibidores de Betalactamasas Amoxicilina – Sulbactam. MEDICINA (Buenos Aires) 2008; 68: 65 – 74.
2. Blair J M, Weeber M, Baylay A, Ogbolu D y Piddock L. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol 2014; 13: 42-51.
3. García Hernández A, García Vasquéz E, Hernández Torres A, Ruíz J, Yagüe G, Herrero JA, Gómez J. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. Rev Esp Quimioter 2011; 24(2): 57-66.
4. Cisneros J, Cordero E. Relevancia de las BLEE en el pronóstico y coste de las infecciones. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007; 25(2): 48-53.
5. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, Pascual A. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in non hospitalized patients. J Clin Microbiol 2004; 42: 1089-94.
6. Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, Ko WC, Goossens H, von Gottberg A, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. Clin Infect Dis. 2000; 30(3): 473–8.
7. García C, Astocondor L, Banda C. Enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido: Situación en América Latina y el Perú. Acta Med Per 2012; 29(3): 163-169.
8. Oteo J. Antibiotic resistance in 1962 invasive isolates of *Escherichia coli* in 27 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2001). J Antimicrob Chemother 2002; 50: 945-52.
9. Oteo J, Pérez-Vázquez M, Campos J. Extended-spectrum [beta]lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. Curr Opin Infect Dis 2010; 23: 320-6.
10. Casellas J. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la Infectología. Rev Panam Salud Pública 2011; 30(6) 519 – 528.
11. Flores M K, Perez L M, Trelles M G, Malaga M, Loza M, Tapia E. Infección urinaria intrahospitalaria en los servicios de hospitalización de Medicina de un hospital general. Rev Med Hered 2008; 19 (2): 46-52.
12. Jafari A, Aslani M, Bouzari S. Escherichia coli: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. Iran. J Microbiol. 2012; 4(3): 102-117.
13. Garay U, Gayosso J, Diaz R, Velasquez Y, Marcial C, Zambrana M, Anaya V. Factores de Riesgo Específicos en cada tipo de infección nosocomial. Enf Inf Microbiol 2010; 30(3): 91 – 99.
14. Rubio C, Gil J, Gómez-Lus R. Significado clínico de las resistencias bacterianas. En (Gómez j, Gobernado M. Eds). Enfoque clínico de los Grandes Síndromes Infecciosos. Madrid Ergón Ed. 2° ed. 2006: 27-36.

15. Rubtsova M Y, Ulyashova M M, Bachmman T T, Schmid R D & Egorov A M. Multiparametric Determination of Genes and their Point Mutations for Identification of Beta-Lactamases. *Biochemistry* 2010; 75 (13): 1628.
16. Gaitán S L, Espinal P y Grupo de investigación en Resistencia, Región Caribe. Caracterización molecular de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de  $\beta$ - lactamasa de espectro extendido en hospitales de la Región Caribe, Colombia. *Rev Chil de Infect* 2009; 26(3): 239-246.
17. Paterson D L, Hujer K, Hujer A, Yeiser B, Bonomo M, Rice, L, Bonomo R y The International *Klebsiella* Study Group. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Isolates from Seven Countries: Dominance and Widespread Prevalence of SHV- and CTX-M Type  $\beta$ - Lactamases. *Anticrop Agents Chemoter* 2003; 47(11): 3554-3560.
18. Zemelman R, Valenzuela L, Dominguez M, Bello H, González G, Zemelman C. Detección de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en el laboratorio de microbiología. *Rev Chil Infect* (2002); 19 (2): 92-95.
19. Brenner P, Nercelless P, Pohlenz M *et al.* Costo de las infecciones intrahospitalarias en hospitales chilenos de alta y mediana complejidad. *Rev Chil Infect* 2003; 20(4): 285-290.
20. Horan T, Andrus M, Dudeck M. CDC/NHSN surveillance definition of health care–associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* 2008; 36: 309-332.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard*. Ninth Edition. CLSI document M07-A9. (ISBN 1-56238-783-9). Clinical and Laboratory Standard Institute 2012, Wayne, Pennsylvania, USA.