

Enfermedades Infecciosas y Microbiología

Volumen 22
Volume

Número 4
Number

Octubre-Diciembre 2002
October-December

Artículo:

Infecciones nosocomiales por bacterias Gram negativas resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, AC

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 [Índice de este número](#)
- 👉 [Más revistas](#)
- 👉 [Búsqueda](#)

*Others sections in
this web site:*

- 👉 [Contents of this number](#)
- 👉 [More journals](#)
- 👉 [Search](#)



[Medigraphic.com](http://www.Medigraphic.com)

Infecciones nosocomiales por bacterias Gram negativas resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos

CELIA M. ALPUCHE ARANDA,* CARLOS A. DAZA TIMANÁ*

RESUMEN

Las infecciones nosocomiales (IN) son importante causa de morbilidad e incremento de costos. A pesar del aumento de bacterias Gram positivas como agentes etiológicos de estas infecciones, los Gram negativos siguen siendo causa importante en México y en el mundo. Uno de los retos en el diagnóstico oportuno y el tratamiento específico de las IN por Gram negativos es la resistencia a los betalactámicos a través de producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) el cual se considera el principal mecanismo de resistencia frente a cefalosporinas de tercera, cuarta generación y monobactámicos.

Palabras clave: infecciones nosocomiales, Gram negativos, BLEEs.

ABSTRACT

Nosocomial infections (NI) are an important cause of morbidity, also increase costs of medical care. Although, Gram positive bacteria are an increasing cause of NI, Gram negatives are still an important cause in Mexico and all over the world. One of the challenges in early diagnosis and specific treatment of NI due to Gram negatives is the resistance to betalactamics due to production of extended spectrum betalactamases (ESBLs), which is considered as the main mechanism of resistance against third and fourth generation cephalosporins and monobetalactamics.

Key words: nosocomial infections, Gram negatives, ESBLs.

Las infecciones nosocomiales (IN) son aquellas que no están presentes, ni en periodo de incubación cuando el paciente ingresa al hospital, y en general se considera que éstas se presentan posterior a las 72 horas de ingreso al centro asistencial.¹ Una IN prolonga el tiempo de estancia hospitalaria, incrementa la mortalidad, eleva los costos de atención y afecta la calidad de vida del individuo durante la recuperación de su enfermedad de base. Estas infecciones afectan más las

áreas hospitalarias donde se atienden pacientes en estado crítico como las salas quirúrgicas, de inmunocomprometidos, o Unidades de Cuidados Intensivos.⁵ La preocupación por estas infecciones llevó al desarrollo de una verdadera disciplina en la epidemiología hospitalaria en las últimas tres décadas y a la creación de programas de control de IN en los Estados Unidos de Norteamérica y en todo el mundo.⁶ El impacto en la prevención y control de IN depende de un programa activo y efectivo de control, como se demostró en el proyecto SENIC (Study on Efficacy of Nosocomial Infection Control Project) donde se logró una disminución en el 32% de estas infecciones.⁷ En América Latina, sólo el 5% de los hospitales tienen Comités con programas regulares de control.⁸ En México el Dr. Ponce de León y col. se consideran un grupo pionero en esta disciplina de estudio y actualmente se cuenta con un programa nacional de vigilancia denominado

* Laboratorio de Infectología, Microbiología e Inmunología Clínicas. Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México-Hospital General de México.

Correspondencia: Dra. Celia Alpuche. Dr. Balmis 148 Col. Doctores CP 06720. Tel. 56 23 26 68 E-mail: celiam@servidor.unam.mx.

Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE) de la Dirección General de Epidemiología, donde se incluye a las IN.

En países desarrollados las IN representan 5 a 10 casos por cada 100 ingresos. En los Estados Unidos de Norteamérica, en 1986 representaron gastos por 2.5 billones de dólares en cuidados directos del paciente⁹ para 1992 su costo ascendió a 4.5 billones de dólares,¹⁰ el porcentaje IN por 1,000 pacientes día se incrementó en un 36% durante el periodo de 1975 a 1995 y causan anualmente 88,000 muertes (una muerte cada 6 minutos),¹¹ ubicándose como la decimatercera causa de muerte. Estudios tendientes a determinar la frecuencia de IN en diferentes hospitales de México presentan gran variación: Ponce de León y col. encontraron una frecuencia de IN entre el 10-15% en los hospitales de segundo y tercer nivel.¹² En México la tasa de mortalidad asociada con IN en promedio es 5% y si calculamos el total de muertes por IN reportadas a la RHOVE en el 2001 y las comparamos con las causas de mortalidad de reporte obligatorio las IN se ubicarían en la séptima causa de muerte.^{12,13} (DGE) El costo anual de las IN pediátricas en México asciende a 19.4 millones de dólares¹⁴ y el problema es mayor en presencia de brotes, en los que se estima que en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales ocurren hasta 120 brotes por cada 10,000 egresos.¹⁵

ETIOLOGÍA DE INFECCIONES NOSOCOMIALES

La etiología de las IN ha presentado variaciones a través del tiempo y en el inicio los patógenos predominantes detectados fueron predominantemente Gram positivos como *Streptococcus spp* y *Staphylococcus spp*. Con la introducción de los antibióticos se llevó a cabo una disminución de las infecciones causadas por estos organismos y las infecciones pasaron a ser producidas principalmente por bacterias Gram negativas.⁵ A finales del milenio pasado las infecciones por bacterias Gram positivas han reaparecido como patógenos predominantes en algunas partes del mundo^{5,16-18} y se le suma el incremento de casos causados por hongos.^{5,18} A pesar de ello las bacterias Gram negativas todavía se encuentran entre los principales agentes etiológicos a nivel mundial.^{5,18-20} En México, durante las

dos últimas décadas las bacterias Gram negativas como *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp* y *Pseudomonas spp* se encuentran entre las causas más frecuentes de IN, con una alta mortalidad asociada.²¹⁻²⁴ Particularmente se han reportado brotes por *K. pneumoniae* y *Serratia marcescens* multirresistente en diferentes áreas geográficas del país.²⁵⁻²⁹ Un estudio de prevalencia de IN de 21 hospitales pediátricos en el que se estudiaron 1,183 pacientes de ellos 116 presentaron IN para una prevalencia de 9.8%, los principales microorganismo identificados en los hemocultivos fueron *K. pneumoniae* 31%, *E. coli* 10%, *Pseudomonas spp* 8.2%, *S. aureus* 8.2%, *Candida spp* 6.1% y *Staphylococcus coagulasa negativo* 6.1%.³⁰ En el HP-CMN Siglo XXI-IMSS los principales microorganismos aislados de hemocultivos durante un periodo de siete años (1991 a 1998) fueron los cocos Gram positivos con predominio de *Staphylococcus coagulasa negativo* y *S. aureus*, pero dentro del grupo de las enterobacterias *K. pneumoniae* fue el principal agente causal (comunicación personal). Este mismo hallazgo se encontró en un estudio que incluyó infecciones comunitarias y nosocomiales de niños y adultos en la ciudad de Guadalajara, realizado en dos centros hospitalarios, uno de tercer nivel (Hospital Civil de Guadalajara) y de un hospital de segundo nivel.³¹

INFECCIONES NOSOCOMIALES POR GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A CEFALOSPORINAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (CEE)

Uno de los grandes retos que enfrenta el clínico en el diagnóstico oportuno y como consecuencia el tratamiento específico de enfermedades infecciosas es la aparición y diseminación de bacterias capaces de resistir el efecto de antibióticos a los cuales, por especie, eran previamente susceptibles. La información para que una bacteria desarrolle un mecanismo de resistencia bacteriana se encuentra en su material genético y por lo tanto la capacidad natural de las bacterias de modificar su material genético ya existente o de recibir material genético de forma horizontal de otras bacterias de la misma especie y hasta de diferente género, favorece la aparición y diseminación de estos mecanismos de resistencia bacteriana.³² Por lo tanto

la aparición de estos mecanismos de resistencia bacteriana son hasta cierto punto un evento natural. Por otra parte ha sido evidente que la presión de selección del uso de antibióticos particularmente del uso indiscriminado e inadecuado de los antibióticos de amplio espectro ejerce una presión de selección para la aparición y diseminación de los mecanismos de resistencia bacteriana,^{32,33} lo cual es más evidente en poblaciones cerradas que reciben estos tipos de tratamientos como ocurre en el ambiente hospitalario.^{5,18,33} De tal manera que el problema de IN causados por agentes bacterianos se asocia cada vez con mayor frecuencia a bacterias resistentes a los antibióticos a los cuales eran previamente susceptibles con un gran impacto en morbilidad y mortalidad.^{2-5,18, 27} La utilización de CEE como son las cefalosporinas de tercera, cuarta generación y monobactámicos se han considerado en las últimas dos décadas entre los tratamientos de elección para IN causadas por bacterias Gram negativas como *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp*, entre otras. Sin embargo, a través del tiempo, el incremento en el uso de estas cefalosporinas se ha asociado a incremento en el aislamiento de bacterias Gram negativas resistentes a ellas,³⁴⁻⁴⁰ lo que se ha convertido en un serio problema en el tratamiento de estas IN.³⁸⁻⁴⁰ Los mecanismos de resistencia bacteriana a CEE identificados en Gram negativos³² son (cuadro 1): a) alteración del sitio blanco particularmente en proteínas fijadoras de penicilina (PBP); b) disminución en la permeabilidad al antibiótico; c) la producción de betalactamasas que inactivan la cefalosporina que pueden ser las betalactamasas de espectro extendido (BLEEs)³²⁻⁴⁰ y las de tipo AmpC.⁴¹⁻⁴³ La producción de BLEEs por las bacterias Gram negativas se considera el principal mecanismo de resistencia a CEE.³⁶⁻⁴⁰ Estas enzimas han sido detectadas en casi todas las especies de *Enterobacteriaceas* predominantemente en *K. pneumoniae* y *E. coli*. La mayoría de

estas enzimas han evolucionado de las betalactamasas TEM-1, TEM-2 y SHV-1 que están ampliamente distribuidas entre las enterobacterias.³⁸⁻⁴⁰ El nombre de “TEM” es una contracción de Temoniera, que era el nombre de la paciente de quien se aisló una *E. coli* con esta enzima por primera vez. En contraste “SHV” es una contracción de *sulphydryl* variable (sulfidril variable) nombre que describe las propiedades bioquímicas de estas betalactamasas.^{38,39} Generalmente la información genética para la síntesis de BLEEs está codificada en plásmidos y dado que éstos son fácilmente transmisibles entre los diferentes miembros de las enterobacterias³⁷⁻⁴⁰ hace más fácil la diseminación de este fenotipo de resistencia entre estas bacterias. La acumulación con otros genes que codifican resistencia es factible, lo que genera transmisión de multi-resistencia en un solo plásmido.³⁷

A pesar de que la producción de BLEEs se describió inicialmente en Europa en 1983, inmediatamente después se identificaron en Estados Unidos de Norteamérica (EUA) y a partir de entonces se han identificado prácticamente en todo el mundo.³⁶⁻⁴⁰ Cepas productoras de BLEEs han sido encontradas principalmente en *Klebsiella spp*, *Enterobacter* y *E. coli* entre otras, asociadas a brotes nosocomiales en grandes hospitales particularmente en las áreas de cuidados intensivos y quirúrgicas,^{32,40,44-46} pero recientemente también se han identificado como causales de brotes en unidades de cuidados para pacientes crónicos o asilos de ancianos.⁴⁷ En Europa la BLEE identificada con mayor frecuencia ha sido del tipo SHV-5 mientras que en los EUA TEM-10 y TEM-12 son las más prevalentes.⁴⁴⁻⁴⁶ En América Latina existe escasa información pero estudios principalmente de Argentina, Venezuela, Brasil y México reportan SHV-5 y CTX-M2 como las más prevalentes.⁴⁷⁻⁴⁹ En México Silva y col. han sido los pioneros en el análisis de este tipo de resistencia bacteriana y han descrito que en un análisis de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Enterobacter spp* resistentes a CEE predominan BLEEs de tipo SHV particularmente SHV-5 y adicionalmente describieron una nueva BLEE denominada TLA-1^{49,50} que hasta el momento sólo ha sido descrita en México. Recientemente nuestro grupo de trabajo ha publicado brotes de bacteremias nosocomiales por *K. pneumoniae* productoras de

Cuadro 1. Mecanismos de resistencia a cefalosporinas de espectro extendido en bacterias Gram negativas.

-
- 1) Disminución de la permeabilidad
 - 2) Alteración del sitio blanco (PBPs)
 - 3) Inactivación por beta-lactamasas
 - a) Beta-lactamasas de espectro extendido (BLEEs)
 - b) Beta-lactamasas inducibles tipo AmpC
-

BLEEs del tipo TLA-1 en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital del IMSS de Durango²⁷ y otro producido por *K. pneumoniae* productora de BLEE de la familia SHV en la UCIN del Hospital General de México.²⁸ El programa de vigilancia de resistencia antimicrobiana SENTRY²⁰ reportó que la más alta prevalencia de *K. pneumoniae* productoras de BLEEs se encontró en América Latina con un 45%, seguido de Asia en un 25%, Europa 23%, EUA 8% y Canadá en 5%. En México, La Red Nacional de Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana coordinada por los Drs. Sifuentes, Tinoco y Donís, que agrupa a 15 centros del país, ha demostrado un incremento en la resistencia de *Klebsiella pneumoniae* de origen nosocomial a cefalosporinas de tercera generación, como ceftazidima siendo hasta de casi el poco más del 45% en los datos del 2001 (comunicación personal), lo que sugiere que la producción de BLEEs podría ser un grave problema endémico en algunos Gram negativos de origen nosocomial en nuestro país.

El incremento en esta asociación de IN y bacterias Gram negativas productoras de BLEEs es multifactorial, pero principalmente se describe a la capacidad de estas bacterias de poder intercambiar material genético del tipo de plásmidos lo cual se favorece por la selección a través de los tratamientos con antibióticos de amplio espectro, generalmente de forma empírica, que son más necesarios en los pacientes gravemente enfermos.³³ Además estos pacientes se encuentran con múltiples procedimientos invasivos que favorecen la diseminación endógena y cruzada de este tipo de microorganismos^{5,6,11,16,18,27} que se ejemplifica en el cuadro 2 donde se describen los principales factores de riesgo descritos para infección o colonización con bacterias Gram negativas productoras de BLEEs.⁵¹ En un estudio de casos y controles de un pequeño brote de bacteremia y neumonía nosocomial, por *K. pneumoniae* multirresistente incluyendo resistencia a CEE y sólo sensible a ciprofloxacina e imipenem/cilastatina, que describimos en la UCIN de un hospital de Durango²⁷ se identificó, a la disminución del personal de enfermería especializado y al sobrecupo de pacientes como factores de riesgo, además de los normalmente descritos y la mortalidad en este brote fue del 66% (cuadro 3). Tanto en este brote como en el del Hospi-

Cuadro 2. Factores de riesgo para infección o colonización con *Enterobacteriaceae* productoras de BLEEs.

- Catéter arterial
- Catéter venoso central
- Tubo de gastrostomía o jejunostomía
- Catéter urinario
- Vivir en casas de cuidado crónico o asilo de ancianos
- Bajo peso al nacimiento
- Cirugía abdominal de urgencia
- Colonización gastrointestinal
- Tratamiento antibiótico previo
- Tratamiento previo con ceftazidima o aztreonam
- Enfermedad grave
- Ventilación asistida
- Estancia prolongada en Unidades de Cuidados Intensivos
- Estancia hospitalaria prolongada

Adaptado de Jacoby y col.^{52,70} (tomados de estudios de casos y controles).

tal General de México²⁸ el reforzamiento de las medidas de precauciones universales de contacto y el cierre de las salas fue suficiente para control de estos brotes. Estos datos sumados a la falta de evidencia de fuente común y la distribución de casos durante el tiempo del brote fuertemente sugieren la transmisión cruzada y no una fuente común como principal fuente de diseminación de estas cepas, en estos brotes.

DETECCIÓN Y TRATAMIENTO DE INFECCIONES POR GRAM NEGATIVOS PRODUCTORES DE BLEEs

La detección oportuna y adecuada con las pruebas *in vitro* de bacterias productoras de BLEEs todavía se considera un dilema. Una forma práctica para la detección de BLEEs puede ser realizada por las pruebas de susceptibilidad con ceftazidima que detecta la mayoría de aislamientos productores de BLEEs,⁵¹⁻⁵⁴ sin embargo no detecta todas las BLEEs.⁵⁵ Si la susceptibilidad a la ceftazidima se encuentra reducida, la prueba sinérgica o de doble disco entre ceftazidima y clavulanato debe ser realizada, la producción de BLEEs es inferida si la zona de inhibición de la ceftazidima es aumentada por el clavulanato.^{55,58} Iguales datos pueden ser obtenidos con la prueba E-test (AB BIODISK) en la cual una tira contiene concentraciones crecientes de ceftazidima en un extremo y en el otro ceftazidima más clavulanato, los resultados de esta prueba han permitido una adecuada detección de BLEEs, aunque no indica el tipo de betalactamasa que está siendo

Cuadro 3. Factores de riesgo asociados a brote de sepsis y neumonía nosocomial por *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEEs en Durango, México.²⁷

	Casos %	Controles %	OR (CI ₉₅)
Número	6	12	24 (1.17-12759)
Catéter venoso central	66	8	16.67 (1.02-864)
Ventilación mecánica	100	23	14.00 (1.1-691)
Soluciones intravenosas	100	30	14.00 (1.11-692)
Uso de antibióticos	100	31	5.20 (1.17-1275)
Nutrición parenteral	16	8	2.75 (0.14-48)
Ruptura prematura de membranas	33	15	
Lugar de nacimiento			
IMSS	50	92	0.08 (0.0-170)
Otro hospital	50	8	
Peso al nacimiento (g)			
≤ 2,500	66	54	1.71 (0.16-24.78)
≥ 2,501	34	46	
Edad gestacional (semanas)			
< 30	33.3	15.4	2.75 (0.14-48)
31-33	0.0	7.8	1.0 (0.01-23.09)
34-36	66.7	61.5	1.25 (0.12-18.58)
37-40	0.0	15.4	0.61 (0.01-10.01)

	Pre-epidémico	Epidémico	Posepidémico	F	P*
Índice paciente/enfermera: (\bar{X} + DE)					
a) Paciente/enfermera	2.30 + 0.20	2.65 + 0.58	2.63 + 0.44	2.56	0.09
b) Paciente/enfermera especialista en UCIN	0.76 + 0.56	2.69 + 1.95	1.53 + 0.51	8.30	0.001

Abreviaciones: CI₉₅ = 95% de intervalo de confianza, OR índice odds, \bar{X} = promedio, DE = desviación estándar

* Análisis de varianza de una vía.

producida por la bacteria, además de que se han reportado algunas inconsistencias con sus valores intermedios.⁵⁷⁻⁵⁹ Otra versión del análisis de susceptibilidad a ceftazidima y cefotaxima solas y combinadas con ácido clavulánico es una técnica de microdulición automatizada conocida como Vitek.⁶⁰ Otras técnicas más específicas para conocer el tipo de BLEEs que está siendo producida, requieren de la identificación del material proteico o genético mediante detección de punto isoelectrico de las betalactamasas producidas o por amplificación con PCR, hibridación por sondas de DNA o secuenciación de DNA.^{56,59} Esta información más específica tiene importancia epidemiológica o para investigación básica sobre los mecanismos moleculares de resistencia bacteriana, pero no son técnicas prácticas ni económicamente al alcance de los laboratorios clínicos.

Desde el punto de vista de investigación el conocimiento sobre si el gen que codifica la resistencia se acarea en un plásmido o en el cromosoma tiene aplicación en las estrategias de control de las infecciones. Una vez

conocido el tipo de betalactamasa y el gen que la codifica se puede seguir la ruta epidemiológica con mayor seguridad o evaluar cómo se ha diseminado este problema evolutivamente en una región, entre diferentes hospitales o dentro del mismo hospital. Adicionalmente, sirve para guiar al clínico a escoger la terapia empírica apropiada inicial o qué tipo de programa de control de antibióticos necesita implementar.⁶¹

Existe gran controversia en el tratamiento adecuado de IN causadas por Gram negativos productores de BLEEs. Existen algunos reportes de buena evolución clínica a pesar de recibir cefalosporinas para el tratamiento de infecciones causadas por organismos productores de BLEEs.⁶² Una explicación para esto es que la eficacia del tratamiento está afectada por el sitio de la infección, como en el caso de la terapia empírica para las infecciones urinarias con microorganismos resistentes al agente usado que puede ser exitosamente tratada debido a las altas concentraciones de antibiótico alcanzadas en la orina. Otro factor importante que compromete la eficacia del tratamiento es el efec-

to inóculo en el cual su concentración inhibitoria mínima (MIC) se puede incrementar de 4 a 100 veces con el incremento de la población bacteriana conllevando a una falla del tratamiento a pesar que los resultados *in vitro* indiquen que es un aislamiento sensible o de resistencia intermedia.^{57,59,62-64} La importancia del sitio de la infección llega a ser más clara si se analizan infecciones más serias, como bacteremias donde se ha demostrado que la mortalidad puede ser tan alta como del 75% cuando se usó terapia empírica inicial inadecuada, comparada con 28% entre los pacientes que recibieron terapia inicial adecuada.^{65,66} Adicionalmente un estudio prospectivo encontró un resultado clínico inadecuado en el tratamiento de infecciones serias debido a organismos productores de BLEEs cuando se utilizó cefalosporinas, aunque el laboratorio indicaba que la cepa era sensible o intermedia.⁶⁷ Los datos anteriores apoyan la recomendación que infecciones serias producidas por organismos productores de BLEEs no deben ser tratadas con cefalosporinas, así las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana indiquen que las cepas son susceptibles o con valores intermedios a alguna.⁶⁸ *Klebsiella pneumoniae* resistentes a ceftazidima por la producción de BLEEs han demostrado con mayor frecuencia ser portadores de multirresistencia a varios tipos de antibióticos en comparación con cepas susceptibles a ceftazidima.^{27,28,44} Se considera que carbapenemes son efectivos en el tratamiento de infecciones con bacterias productoras de BLEEs con susceptibilidades de 93 al 100%.⁶⁸⁻⁷⁰ Otra posibilidad de tratamiento si las cepas permanecen susceptibles son las fluoroquinolonas. Los betalactámicos más inhibidores de betalactamasas han demostrado una buena actividad *in vitro* contra organismos productores de BLEEs, además han demostrado proteger contra la adquisición de los mismos.⁷¹

Es importante enfatizar que dada la asociación de estos dos elementos que son IN y resistencia de Gram negativos a CEE por producción de BLEEs las intervenciones que han demostrado que pueden limitar la diseminación de este tipo de cepas son las mismas políticas para cualquier tipo de IN, como reforzamiento de lavado de manos, identificar y aislar a los pacientes colonizados e infectados, uso de guantes y bata para los pacientes identificados en la unidad, restricción de

antibióticos para los cuales la clona es resistente y cierre de la unidad en caso necesario. Si el problema identificado es endémico debe considerarse la implementación de un programa de control de antibióticos, así como de identificación de factores de riesgo para colonización y de transmisión cruzada de estas cepas que están causando estas infecciones. Esta combinación de IN e incremento de la resistencia antimicrobiana en cepas bacterianas que las causan es un perfecto ejemplo de la asociación de dos poderosos enemigos que complican el tratamiento de enfermedades infecciosas con gran impacto en morbilidad y mortalidad para los individuos que las padecen.

REFERENCIAS

1. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988;16:128-40.
2. Schiappa DA, Hayden MK, Matushek MG et al. Ceftazidime resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bloodstream infection: a case control and molecular epidemiologic investigation. *J Infect Dis* 1996;174:529-536.
3. Meyer KS, Urhan C, Eagan JA, Berger BJ. Nosocomial outbreak of infection resistant to late generation cephalosporins. *Ann Intern Med* 1993;119:353-358.
4. Naumovski K, Quinn JP, Miyashiro D et al. Outbreak of ceftazidime resistant due to a novel extended spectrum β -lactamase in isolates from cancer patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1991-1996.
5. Edmond MB, Wenzel RP. Nosocomial infections. In: principles and practice of infectious diseases. Mandell GL, Bennett JL, Dolin R. Fifth Ed. Churchill Livingstone, USA. 2000;2:2988-3074.
6. MMWR. Public health focus: surveillance, prevention, and control of nosocomial infections. 1992;42:783-787.
7. Haley RW, Culver DH et al. The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US hospitals. *Am J Epidemiol* 1985;121:182-205.
8. Organización Panamericana de la Salud-Organización Mundial de la Salud. Directorio Latinoamericano y del Caribe de Hospitales. Washington, DC. OPS-OMS. 1995.
9. Wenzel RP, Pfaller MA. Infection control: the premier quality assessment program in United States Hospitals. *Am J Med* 1991;91(Suppl. 3B):27S-31S.
10. Martone WJ, Jarvis WR et al. Incidence and nature of endemic and epidemic nosocomial infections. In: Bennett JV, Brachman PS, eds. Hospital infections. Boston: Little, Brown, and Company. 1992:577-96.
11. Weinstein RA. Nosocomial infection update. *Emerg Infect Dis* 1998;4:416-420.
12. Ponce de León RS, Rangel FMS. Infections control in developing countries. In: Bennett J, Brachman P, eds. Hospital Infections. Philadelphia: Lippincott Raven 1998:291-295.
13. Ponce de León RS. Magnitud del problema y propuestas de control. Ponce de León S, Soto JL. Infecciones intrahospitalarias. Mc Graw-Hill Interamericana, México, D.F. 1996.

14. Ávila FC. Evaluación del impacto económico y la mortalidad de las infecciones nosocomiales en pediatría. *Enferm Infecc Microbiol* 1996;16:53.
15. Molina BI, Avila FC. Outbreak of nosocomial infection in a pediatric network of public hospitals (abstract 404). In Program & Abstract of the 38th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. September 2000 7-10. New Orleans Louisiana. 2000:10.
16. Amyes SGB, Gemmell CG. Antibiotic resistance. *J Med Microbiol* 1997;46:436-470.
17. Lucien OC, Sergio BW, Aduato C. Risk factors for mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992;13:725-737.
18. Struelens MJ. Hospital infection. In: Infectious diseases edited by Armstrong D, Cohen J, Mosby. Philadelphia PN. 1999;3(10):10.1-10.14.
19. Toltzis P, Blumer JL. Nosocomial acquisition and transmission of antibiotic resistant Gram negative organisms in the pediatric intensive care unit. *Pediatric Infect Dis J* 2001;20:612-18.
20. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis. 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. *CID* 2001;32(Suppl. 2):S94-S103.
21. Navarrete NS, Muñoz HO, Santos PJI. En: Infecciones nosocomiales en pediatría. Eds Mc Graw Hill. Interamericana. México, D.F. 1998.
22. Livrelli V, De Champs C, Di Martino et al. Adhesive properties and antibiotic resistance of *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Serratia* clinical isolates involved in nosocomial infections. *J Clin Microbiol* 1996;34:1963-1969.
23. Martínez LA, Mancilla RJ, Santos PJI. Sepsis neonatal. Experiencia 1980-1985 del Hospital Infantil de México. *Bol Med Hosp Inf Mex* 1988; 46:77-78.
24. Macías AE, Muñoz JM, Bruckner DA et al. Parenteral infusions bacterial contamination in a multi-institutional survey in Mexico: considerations for nosocomial mortality. *AJIC* 1999;27:285-290.
25. Silva J, Gatica R, Aguilar C. Outbreak of infection with extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in Mexican Hospital. *J Clin Microbiol* 2001;39:3193-3196.
26. Miranda MG, Kelly C, Solórzano F, Leños B, Coria R, Patterson JE. Use of pulsed-field gel electrophoresis typing to study an outbreak of infection due to *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol* 1996;34:3138-3141.
27. Martínez-Aguilar G, Alpuche-Aranda CM, Anaya C, Alcántar-Curiel MD, Gayosso C, Daza C, Mijares C, Tinoco JC, Santos JI. Outbreak of nosocomial sepsis and pneumonia in a newborn intensive care unit by multiresistant extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: high impact in mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001;22:725-728.
28. González-Vértiz, Alcántar-Curiel MD, Cuauhtli M, Daza C, Gayosso C, Solache G et al. Multiresistant extended-spectrum beta-lactamase causing and outbreak of nosocomial bloodstream infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001;22:723-725.
29. Miranda MG, Gordillo MG, Solórzano F, Leños B, Villasis MA, Villegas R. Estudio de casos y controles en un brote de *S. marcescens* en una unidad de cuidados intensivos 1998;50:13-18.
30. Figueroa CA, Cruz CM, Patrón EA, León RA y col. Prevalencia de infecciones nosocomiales en niños: encuesta de 21 hospitales en México. *Salud Pública de México* 1999;41:S18-S25.
31. Rodríguez NE, Morfín OR, Esparza AS. Producción de beta-lactamasas y patrones de resistencia bacteriana, 1988-1991. *Gac Med Mex* 1994;5:355-360.
32. Opal SM, Mayer KH, Medeiros AA. Mechanisms of bacterial antibiotic resistance. In: principles and practice of infectious diseases. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Fifth Ed. Churchill Livingstone, USA. 2000;2:236-252.
33. Baquero F, Negri ME, Morosin NI, Blazquez J. Antibiotic selective environments. *Clin Infect Dis* 1998;30(27(Suppl. 1)):S5-S11.
34. Sha PW, Stille W. *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains more susceptible to cefoxitin than to third generation cephalosporins (letter). *J Antimicrob Chemother* 1983;11:597-598.
35. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Phillippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility pattern. *Rev Infect Dis* 1998;10:867-878.
36. Jacoby GA, Medeiros AA, O'Brien TF, Pinto ME, Jiang H. Broad-Spectrum. Transmissible beta-lactamases. *N Engl J Med* 1988;319:723-724.
37. Medeiros AA. Evolution and dissemination of β -lactamases accelerated by generations of β -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis* 1997;24:S19-45.
38. Livermore DM. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-584.
39. Neu CH. Contribution of beta-lactamases to bacterial resistance and mechanisms to inhibit beta-lactamases. *The American Journal of Medicine* 1985;79(Suppl 5B):2-12.
40. Quinn JP. Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;(Suppl 1):39-42.
41. Sanders CC. Beta-lactamases of Gram negative bacteria: new challenges for new drugs. *Clin Infect Dis* 1992;14:1089-1099.
42. Jacobs C, Frere JM, Normak S. Cytosolic intermediates for cell wall biosynthesis and degradation control inducible beta-lactamases resistance in Gram negative bacteria. *Cell* 1997;88:823-832.
43. Extended-Spectrum Beta-lactamases and other enzymes providing resistance to oxymino beta-lactams. *Infect Dis Clin North Am* 1997;11:875-887.
44. Podschun R & Ullmann. *Klebsiella ssp* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:589-603.
45. Bauernfeind A, Rosenthal E, Eberlein E et al. Spread of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 beta-lactamase among hospitalized patients. *Infection* 1993;21:18-22.
46. French GL, Shannom KP, Simmons N. Hospital outbreak of *Klebsiella pneumoniae* resistant to broad spectrum cephalosporins and B-lactam-B-lactamase inhibitor combinations by hyperproduction of SHV-5 B-lactamase. *J Clin Microbiol* 1996;34:358-363.
47. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA et al. Multiple antibiotic resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *JAMA* 1999;281:517-523.
48. Guzmán-Blanco M, Casellas JM, Silva SH. Bacterial resistance to antimicrobial agents in Latin America. The giant is awakening. *Infectious Disease Clinics of North America* 2000;14:67-81.
49. Aranque M, Nieves B, Lauretti L, Rossolini GM. Molecular basis of extended spectrum beta-lactamase production in nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* from M inverted question Mark, Venezuela. *Int J Antimicrob Agents* 2000;15:37-42.
50. Silva J, Aguilar C, Becerra Z, López- Antuñano F, García R. Extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of enterobacterias in Mexico. *Microbial Drug Resistance* 1999;3: 189-193.

51. Silva J, Aguilar C, Ayala G, Estrada MA, Garza RU, Lara LR, Ledezma L. TLA-1: a new plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase from *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:997-1003.
52. Jacoby GA. Development of resistance in Gram negative pathogens. Extended-Spectrum beta-lactamases. In: Emerging pathogens in infectious disease. A hospital practice special report. Minneapolis, Min: Mc Graw-Hill; 1999:14-19.
53. Bradford PA. Extended spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001;14:933-951.
54. Bush K. New β -lactamases in Gram negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. CID 2001;32:1085-9.
55. Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended spectrum betalactamase. J Clin Microbiol 1994;32:691-696.
56. Louie M, Franklin R, Cockerill III. Susceptibility testing. Infect Dis Clin North Am 2001;15:1205-1226.
57. Livermore DM, Brown DFJ. Detection of β -lactamase mediated resistance. JAC 2001;48:S59-S64.
58. Vercauteren E, Descheemaeker P, Leven M, Sanders CC, Goossens H. Comparison of screening methods for detection of extended spectrum β -lactamases and their prevalence among blood isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp* in a Belgian Teaching Hospital. J Clin Microbiol 1997;35:2191-2197.
59. Livermore DM, Williams JD. β -Lactams: mode of action and mechanisms of bacterial resistance. In: antibiotics in laboratory medicine, (Lorian, V, Ed.), Williams & Wilkins, Baltimore, MD. 1996:502-7.
60. Sanders CC, Barry AL, Washington JA et al. Detection of extended-spectrum beta-lactamases-producing members of the family *Enterobacteriaceae* with Vitek ESBI test. J Clin Microbiol 1996;34:2997-3001.
61. Bush K. Is it important to identify extended-spectrum beta-lactamases-producing isolates? Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996;15:361-364.
62. Brun-Buisson C, Legrand P, Phillippon A, Montravers F, Ansqer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. Lancet 1987;2:302-306.
63. Meyer KS, Urban C, Eagen JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late generation cephalosporins. Ann Intern Med 1993;119:353-358.
64. Naumovski L, Quinn JP, Miyashiro D et al. Outbreak of ceftazidime resistance due to a novel extended spectrum β -lactamase in isolates from cancer patients. Antimicrob Agents Chemother 1992;36:1991-1996.
65. Peterson DL, Yu VL. Editorial response: extended spectrum β -lactamases: a call for improved detection and control. Clin Infect Dis 1999;29:1411-1418.
66. Peterson DL, Ko WC, Mohapatra S et al. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: impact of extended spectrum β -lactamase (BLEEs) production in a global study of 216 patients. In: program and abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Toronto). Washington, DC: American Society for Microbiology 1997.
67. Peterson DL, Ko WC, Gottberg AV et al. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol 2001;39:2206-2212.
68. Peterson DL. Recommendation for treatment of severe infections caused by *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum β -lactamases (BLEEs). CMI 2000;6:460-463.
69. Kayne KS, Fraimow HS, Abrutyn E. Pathogens resistant to antimicrobial agents: epidemiology, molecular mechanisms and clinical management. Infect Dis Clin North Am 2000;14:293-319.
70. Jacoby GA. Extended-spectrum beta-lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino-beta-lactams. Infect Dis Clin North Am 1997;11:875-887.
71. Piroth L, Aube H, Doise JM et al. Spread of extended-spectrum-beta-lactamases-producing *Klebsiella pneumoniae*: Are beta-lactamase inhibitors of therapeutic value? Clin Infect Dis 1998;27:76-80.

