

# Prevalencia de $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en enterobacterias causantes de sepsis neonatal y factores asociados

Juan Carlos Lona-Reyes<sup>1,2</sup>, René Oswaldo Pérez-Ramírez<sup>2</sup>, Virginia Rodríguez-Patiño<sup>2</sup>,  
Araceli Cordero-Zamora<sup>1,2</sup>, Larissa María Gómez-Ruiz<sup>2</sup> y Leonardo Llamas-Ramos<sup>2</sup>

## Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in enterobacteria of neonatal sepsis and associated factors

**Background:** Infections caused by extended-spectrum beta-lactamases enterobacteria (ESBL-EP) have implications for neonatal morbidity and mortality. **Aim:** To describe the prevalence of ESBL-EP in neonatal sepsis and associated factors. **Methods:** A prospective cohort study was conducted from August 2016 to August 2017; newborn babies (NB) hospitalized in the Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca” were included. The ESBL-EP were investigated by double-disk synergy test and its association with clinical and demographic characteristics of the NB. **Results:** A total of 1,501 hospitalized NB were studied, with an average gestational age of 36.3 weeks. They were diagnosed 196 neonatal sepsis events, the most frequent etiologies were enterobacteria (45.5%). Resistance to ampicillin was found in 88.8% and to broad spectrum cephalosporins in more than 42% of the strains; 22.9% of them were ESBL phenotype. Apgar  $\leq 7$  at five minutes of life (OR 4.6; 95% CI 1.47-14.6) and gestational age  $< 37$  weeks (OR 5.4; 95% CI 1.04-27.) increase the risk. **Conclusion:** In enterobacteria that cause neonatal sepsis, 22.9% were EP-ESBL; infection was more likely in patients with Apgar  $\leq 7$  at five minutes of age and in preterm infants.

**Keywords:** Beta-lactamases; beta-lactam resistance; beta-lactams; neonatal sepsis.

**Palabras clave:**  $\beta$ -lactamasas; resistencia a  $\beta$ -lactámicos;  $\beta$ -lactámicos; sepsis neonatal.

<sup>1</sup>Centro Universitario de Tonalá,  
Universidad de Guadalajara.  
Tonalá. Jalisco, México.

<sup>2</sup>Hospital Civil de Guadalajara  
“Dr. Juan I. Menchaca”. División  
de Pediatría. Guadalajara. Jalisco,  
México.

Financiamiento:

Conflictos de interés:

Recibido: 15 de abril de 2018

Segunda versión: 9 de mayo  
de 2019

Aceptado: 25 de junio de 2019

Correspondencia a:

Juan Carlos Lona-Reyes  
carloslona5@hotmail.com

## Introducción

Las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), enzimas bacterianas que tienen la capacidad de inactivar penicilinas, monobactámicos y cefalosporinas, se transmiten a través de plásmidos entre bacterias de la misma o de diferente especie.<sup>1,2</sup> En países en vías de desarrollo, donde la principal etiología de sepsis neonatal son enterobacterias, este mecanismo de resistencia cobra importancia por las implicaciones desfavorables sobre la morbilidad y/o mortalidad neonatal<sup>3,4</sup>.

En Latinoamérica, la proporción de enterobacterias productoras de BLEE (EP-BLEE) es de 26 a 35%, pero en Brasil, Colombia y Venezuela se ha reportado que hasta 60% de las especies de *Klebsiella* manifiestan la enzima<sup>1</sup>; en el occidente de México, la frecuencia de expresión de BLEE en especies de *Escherichia coli* es de 16,3% y en *K. pneumoniae* de 26,9%; el tipo prevalente es CTX-M-15 (85%)<sup>5</sup>, aunque en la década previa el tipo predominante en enterobacterias aisladas de pacientes pediátricos había sido el tipo SHV-5<sup>6</sup>.

Durante el periodo neonatal, la colonización del tracto digestivo por bacterias saprofíticas permite el desarrollo

de la microbiota intestinal, pero en pacientes prematuros hospitalizados, en neonatos expuestos a antimicrobianos de amplio espectro, con dispositivos invasores y/o con procedimientos quirúrgicos, las enterobacterias patógenas colonizan las superficies epiteliales e incrementan el riesgo de infección<sup>7</sup>.

Huerta-García y cols., (Méjico), observaron que en neonatos hospitalizados, en la primera semana de estancia se presentó colonización intestinal por EP-BLEE en 61,7% y en la segunda semana hasta 83%; la bacteria prevalente fue *K. pneumoniae*<sup>8</sup>. Se ha propuesto que la leche materna puede disminuir el riesgo de colonización o infección por bacterias patógenas ya que contiene péptidos antimicrobianos (defensinas, catelicidinas, y caseina201) con capacidad de inhibir la proliferación bacteriana<sup>9</sup>.

Las infecciones por EP-BLEE favorecen tratamientos empíricos inadecuados o un uso frecuente de antimicrobianos carbapenémicos lo que se ha relacionado con incremento en las cepas productoras de carbapenemas<sup>10,11</sup>.

El objetivo de este estudio fue analizar la prevalencia de EP-BLEE en eventos de sepsis neonatal de una Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) e identificar los factores asociados.



## Métodos

Se realizó un estudio de cohorte prospectivo, en el Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca” (HCGJIM) de la Ciudad de Guadalajara, Jalisco. La institución atiende a población abierta de escasos recursos económicos. El Servicio de Neonatología está integrado por la Terapia Intensiva Neonatal (18 cunas) y Terapia Intermedia (67 cunas).

El hospital no tiene un programa de diagnóstico materno prenatal de infección por *Streptococcus agalactiae*, los antimicrobianos profilácticos prenatales son prescritos en función de factores de riesgo y manifestaciones clínicas maternas. La frecuencia de nacimientos prematuros es de 12,04% (IC 95% 11,52-12,60). Cuarenta por ciento de los nacimientos son por cesárea.

La incidencia de sepsis neonatal temprana es de 0,47%<sup>12</sup> y de sepsis nosocomial de 10,7%. En ambos tipos de infección, las bacterias prevalentes son enterobacterias. El esquema antimicrobiano empírico para sepsis neonatal temprana es ampicilina/gentamicina y para sepsis nosocomial vancomicina/amikacina o meropenem.

El estudio se elaboró desde el 26 agosto de 2016 al 28 de agosto de 2017. Se incluyeron en la cohorte todos los pacientes nacidos en la institución que fueron ingresados al Servicio de Neonatología; no se incluyeron pacientes nacidos en otras unidades hospitalarias.

De los expedientes de los recién nacidos (RNs) se obtuvo la información sobre la vía de nacimiento, el género, la edad gestacional, Apgar a los cinco minutos de vida y el peso al nacimiento.

De los expedientes maternos se registró la edad materna, el número de embarazos, el número de consultas de control prenatal, el uso de antimicrobianos durante el trabajo de parto (transporto) y la presencia de factores de riesgo para infección (rotura prematura de membranas, infección de vías urinarias, corioamnionitis y/o fiebre materna). Se interrogó a la madre sobre el uso de antimicrobianos en las 72 h previas al inicio del trabajo de parto (preparto).

Las defunciones fueron identificadas en los registros del Servicio de Epidemiología.

Se estableció el diagnóstico de sepsis neonatal si los RNs presentaron manifestaciones clínicas (fiebre, hipotermia, taquicardia, bradicardia, polipnea, hipoactividad, hiporexia, vómito o diarrea) y crecimiento microbiano en cultivos de sangre y/o líquido cefalorraquídeo (LCR). Se clasificó como sepsis temprana si ocurrió antes de las 72 h de vida o infección nosocomial si se presentó después.

La toma de muestras para estudios microbiológicos fue acorde al protocolo de diagnóstico de sepsis neonatal de la Secretaría de Salud<sup>13</sup>. Los cultivos de sangre y de LCR se obtuvieron, con técnica aséptica y se inocularon en frascos BacT/ALERT PF Pediatric FAN®. Se vigiló

el crecimiento microbiano en sistema automatizado Bact/ALERT®3D durante siete días. Las muestras detectadas con crecimiento microbiano fueron resembradas en agar sangre y McConkey.

En los cultivos de sangre y LCR, la prueba se consideró positiva si existió crecimiento de bacterias o levaduras, excepto para especies de *Bacillus*, *Micrococcus* y *Staphylococcus* coagulasa negativa, para los que se requirieron dos o más frascos positivos para diagnosticar infección del torrente sanguíneo, o que el LCR presentara anormalidad en el número de leucocitos y glucosa como indicadores de infección del sistema nervioso central.

En las bacterias aisladas de cada evento de sepsis se identificó género y especie, y se realizó prueba de sensibilidad a antimicrobianos mediante sistema automatizado Vitek® 2. Las bacterias se inocularon en paneles deshidratados y se incubaron a 35°C durante 16 a 24 h.

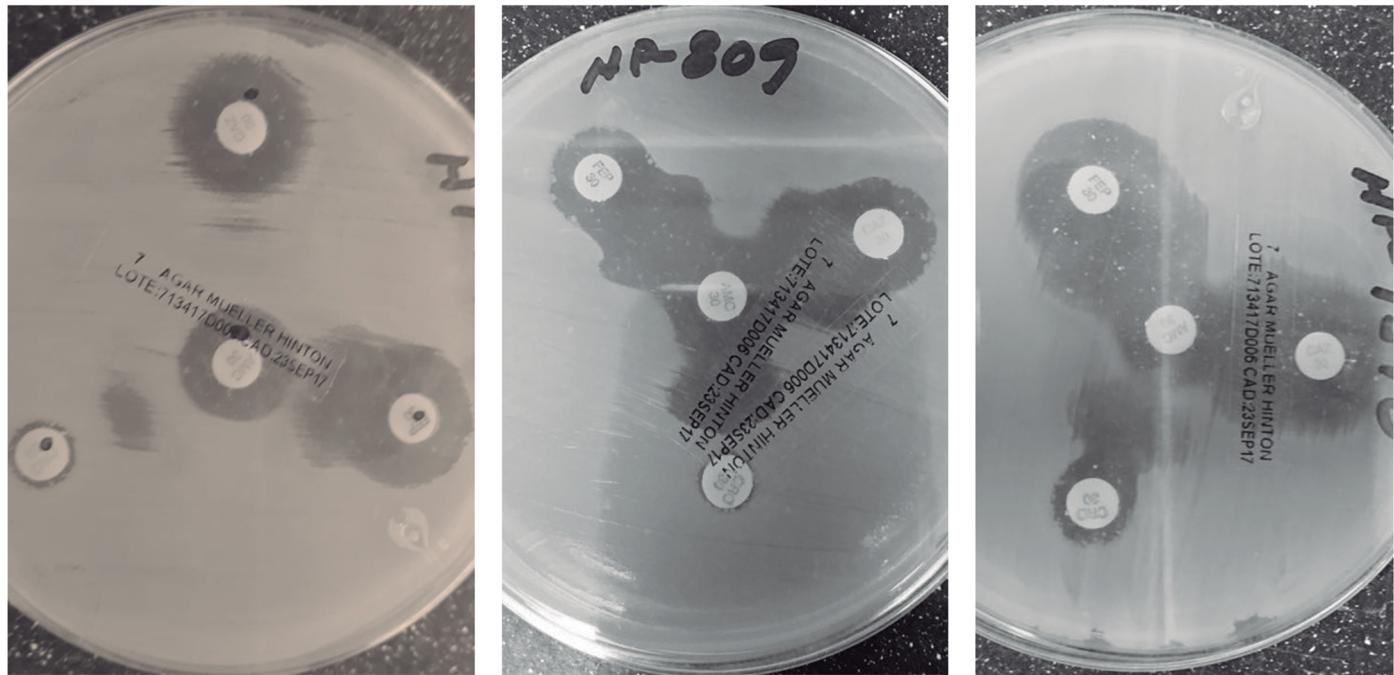
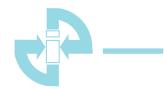
Los puntos de corte de las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) para definir resistencia antimicrobiana fueron acordes a los criterios establecidos por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)<sup>12</sup>. Los resultados obtenidos fueron cualitativos y se expresaron como sensibles, sensibilidad intermedia o resistentes.

En las enterobacterias aisladas se realizó prueba de difusión de doble disco: se inocularon las cepas bacterianas en agar Mueller-Hinton y sobre éste se colocaron tres discos impregnados con cefepime 30 µg, ceftriaxona 30 µg y ceftazidima 30 µg, a una distancia de 30 mm de un disco central con amoxicilina y ácido clavulánico 20/10 µg. Se consideró la prueba positiva a BLEE cuando hubo resistencia a cefalosporinas y una zona de inhibición ≥ 5 mm alrededor de cualquiera de los tres discos en el lado contiguo al disco con amoxicilina y ácido clavulánico. (Figura 1) Los puntos de corte para definir la resistencia a las cefalosporinas fueron cefepime ≤ 18 mm, ceftriaxona ≤ 19 mm y ceftazidima ≤ 17 mm<sup>14,15</sup>.

Se consideraron bacterias multi-resistentes aquellas que presentaron resistencia al menos a un antimicrobiano de tres familias diferentes en la prueba automatizada del sistema Vitek® 2. Para la identificación de BLEE en este sistema, en la tarjeta de sensibilidad para bacilos gramnegativos se inoculó la bacteria en seis pocillos que contienen cefepime a 1,0 µg/ml, cefotaxima a 0,5 µg/ml, y ceftazidima a 0,5 µg/ml, solos y en combinación con ácido clavulánico (10, 4 y 4 µg/ml, respectivamente); el crecimiento en cada pozo se evalúa cuantitativamente por un escáner óptico. Un evento con reducción proporcional del crecimiento en pocillo que contiene ácido clavulánico es considerado BLEE positivo<sup>16</sup>.

## Análisis estadístico

Se investigó la prevalencia de EP-BLEE en pacientes con sepsis neonatal y se compararon sus características



**Figura 1.** Ejemplos de pruebas de sinergia de doble disco positivas. En los discos de cefepime, ceftriaxona o ceftazidima se observó incremento en el halo de inhibición ( $\geq 5$  mm) en el lado continuo al disco de amoxicilina/ácido clavulánico.

clínicas y demográficas con RNs sin infección y con pacientes infectados por enterobacterias no productoras de BLEEs. De las variables cuantitativas se estimaron media, desviación estándar (DE) y rangos. Para la comparación de medias se usó prueba *t de Student*. De las variables peso, edad gestacional y Apgar a los 5 minutos de vida se generaron variables dicotómicas y se analizaron como cualitativas. De las variables cualitativas se cuantificaron frecuencias y porcentajes; la búsqueda de asociación entre éstas y la dependiente se realizó mediante odds ratio (OR) con intervalos de confianza (IC) al 95%, usando prueba  $\chi^2$  como prueba de contraste de hipótesis. Posteriormente, se realizó análisis multivariado con regresión logística y se excluyeron, paso a paso, las variables no significativas o que mostraran interacción con otras variables. Se utilizó programa IBM SPSS Statistics Versión 20 y open-epi ([http://www.open-epi.com/Menu/OE\\_Menu.htm](http://www.open-epi.com/Menu/OE_Menu.htm)).

Para estimar la frecuencia de resistencia a antimicrobianos de cada especie, se utilizó como numerador las cepas resistentes y como denominador el número de cepas de que fueron probadas para cada antimicrobiano; se utilizó prueba  $\chi^2$  en la comparación de proporciones.

El proyecto fue aprobado por los Comités de Ética e Investigación del HCGJIM con registro # 00130.

## Resultados

Durante el período de estudio, se registraron 8.561 nacimientos y se hospitalizó a 17,5% (n: 1.501). Fueron de género masculino 53,7% (n: 806) de los internados; dos presentaban genitales ambiguos. La edad gestacional promedio fue de 36,3 semanas (mínima 24, máxima 42,4; rango intercuartil 5); el peso promedio al nacimiento fue de 2.404 gramos (mínimo 410, máximo 5.380; rango intercuartil 1.273); 48% (n: 720) fueron prematuros y 15,3% (n: 230) presentaron edad gestacional  $\leq 32$  semanas.

Nacieron por cesárea 930 niños (62%). La edad promedio de las madres fue de 24,8 años (DE 6,9, mínima 12, máxima 45). Fueron primigestas 38,1% (n: 572) y menores de 18 años 13,7% (n: 206). El 19,6% (n: 295) presentó factores de riesgo al momento del trabajo de parto: rotura prematura de membranas (n: 212), infección de vías urinarias (n: 70), corioamnionitis (n: 8) y fiebre sin foco aparente (n: 5).

En 41% (n: 616) de los neonatos hospitalizados se sospechó la presencia de sepsis y se solicitaron cultivos, pero sólo fue corroborada en 25%. En 154 RN se diagnosticaron 196 eventos de sepsis neonatal, 25,5% (n: 50) fueron sepsis temprana (prevención en pacientes hospitalizados 3,3%; IC 95% 2,5-4,3) y 74,5% (n: 146) sepsis nosocomial



**Tabla 1. Características clínicas y demográficas de recién nacidos hospitalizados, con y sin sepsis neonatal temprana y/o nosocomial**

	RN con sepsis temprana y/o nosocomial n: 154	RN sin sepsis neonatal n: 1.347	p
Peso (gramos, media) <sup>a</sup>	2.060,24	2.443,38	< 0,001
Edad gestacional (semanas, media) <sup>a</sup>	34,67	36,53	< 0,001
Escala de Apgar 5 minutos (media) <sup>a</sup>	7,96	8,26	0,019
Género masculino (%) <sup>b</sup>	54,5	53,6	0,87
Nacimiento por cesárea (%) <sup>b</sup>	58,4	62,4	0,34
Muy bajo peso al nacer, < 1.500 g (%) <sup>b</sup>	31,8	14,0	< 0,001

<sup>a</sup>t de Student. <sup>b</sup>χ<sup>2</sup>

**Tabla 2 Etiología de sepsis neonatal temprana y sepsis nosocomial**

Grupo y especies	Sepsis temprana n: 60 n (%)	Sepsis nosocomial n: 151 n (%)	p
Enterobacterias	30 (50%)	66 (43,7%)	0,41
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	42	
<i>Escherichia coli</i>	9	10	
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	10	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	1	
<i>Proteus mirabilis</i>	0	1	
<i>Serratia marcescens</i>	0	2	
<i>Cronobacter sakazakii</i>	1	0	
Enterococcus	9 (15%)	9 (6%)	0,04
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	8	
<i>Enterococcus faecium</i>	2	1	
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	0	
Staphylococcus	7 (11,7%)	36 (23,8%)	0,04
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	1	32	
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	4	
Streptococcus	6 (10%)	3 (2%)	0,009
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5	2	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	0	
<i>Streptococcus constellatus</i>	0	1	
Bacterias no fermentadoras	6 (10%)	13 (8,6%)	0,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	10	
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2	1	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	1	
<i>Burkholderia cepacia</i>	0	1	
Otras	2 (3,3%)	1 (0,7%)	-
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	0	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	1	
<i>Candida</i> sp.	0	23 (15,2%)	0,002

(prevalencia en pacientes hospitalizados 9,7%; IC 95% 8,3-11,3). Cinco pacientes presentaron sepsis neonatal temprana e infección nosocomial y 30 tuvieron dos o más eventos intrahospitalarios.

En 80% (n: 40) de los eventos de sepsis neonatal temprana se identificó el microorganismo en hemocultivos, en cuatro el aislamiento sólo fue en LCR y en seis, se logró en ambas muestras. Las infecciones nosocomiales se confirmaron con hemocultivos positivos en 85,7% (n: 125), cultivos positivos de LCR 6,8% (n: 10) y con ambas muestras positivas en 7,5% (n: 11).

Recibieron antimicrobianos preparto 5,1% (n: 76); los más prescritos fueron cefalexina (36,8%), ampicilina (35,5%), ceftriaxona (11,8%) y nitrofurantoína (11,8%). Y antimicrobianos transparto se utilizaron en 41,3% (n: 620); los más empleados fueroncefalotina 77,2% (n: 479) y ampicilina 16,9% (n: 105).

Las características clínicas y demográficas de neonatos, con y sin infección, se muestran en la Tabla 1. Al comparar estas características entre pacientes infectados por EP-BLEE y los infectados por otros microorganismos, no se observaron diferencias; tampoco hubo diferencias al comparar pacientes con sepsis neonatal temprana y sepsis nosocomial.

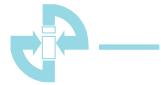
Los microorganismos más identificados fueron enterobacterias 45,5% (n: 96), especies de *Staphylococcus* 20,4% (n: 43) y levaduras 10,9% (n: 23). Al comparar la etiología de infecciones tempranas y nosocomiales se observó diferencia para especies de *Enterococcus* (15 vs. 6%, p: 0,04), *Streptococcus* (10 vs. 2%, p: 0,009), *Staphylococcus* (11,7% vs. 23,8%, p: 0,04) y levaduras (0 vs. 15,2%, p: 0,002) (Tabla 2).

El antecedente de antimicrobianos prenatales (prepardo y/o transparto) no modificó el riesgo de sepsis neonatal temprana (OR 0,57; IC 95% 0,31-1,03) o sepsis nosocomial (OR 0,86; IC 95% 0,57-1,28); sin embargo, el riesgo de sepsis neonatal temprana por bacterias grampositivas disminuyó en 92% (OR 0,079; IC 95% 0,010-0,60), efecto independiente de la edad gestacional.

Las enterobacterias fueron resistentes *in vitro* a ampicilina en 88,8% (72/81), a ampicilina/sulbactam en 55% (44/80), a ceftriaxona en 44,8% (43/96), a cefepime en 42,7% (41/96) y a gentamicina en 43,8% (42/96).

Las menores resistencias *in vitro* se observaron con amikacina 13,5% (13/96), ciprofloxacina 15,6% (15/96) y meropenem 22,9% (22/96). Mostraron resistencia simultánea a ampicilina y amikacina 12,5% (n: 12). Finalmente, fueron multi-resistentes, 47,9% (n: 46 cepas).

Al comparar la resistencia *in vitro* de enterobacterias a diferentes antimicrobianos en función del uso de antimicrobianos prenatales, no se observaron diferencias significativas (Tabla 3). Al examinar las bacterias aisladas de sepsis neonatal temprana y las de adquisición nosocomial, se observó mayor proporción de resistencia a



**Tabla 3. Resistencia a antimicrobianos en enterobacterias causantes de sepsis neonatal en función de la presencia de antimicrobianos (ATM) prenatales**

Enterobacterias	% Resistencia (Cepas resistentes/Cepas analizadas)		
	Cepas aisladas en pacientes sin ATM prenatales (n: 47)	Cepas aisladas en pacientes con ATM prenatales (n: 49)	p
Amikacina	8,5 (4/47)	18,4 (9/49)	0,16
Gentamicina	40,4 (19/47)	46,9 (23/49)	0,52
Ampicilina	84,2 (32/38)	93,0 (40/43)	0,21
Ampicilina/sulbactam	47,4 (18/38)	61,9 (26/42)	0,19
Piperacilina/tazobactam	25,5 (12/47)	24,5 (12/49)	0,86
Aztreonam	36,2 (17/47)	51,0 (25/49)	0,14
Ceftriaxona	38,3 (18/47)	51,0 (25/49)	0,21
Cefepime	36,2 (17/47)	49,0 (24/49)	0,24
Ciprofloxacina	14,9 (7/47)	16,3 (8/49)	0,64
Meropenem	21,3 (10/47)	24,5 (12/49)	0,71
Cotrimoxazol	36,2 (17/47)	40,8 (20/49)	0,64
BLEE (VITEK® 2)	18,9 (7/37)	29,3 (12/41)	0,29
BLEE (Doble disco)	27,5 (11/40)	18,6 (8/43)	0,33
Multi-resistencia	40,4 (19/47)	55,1 (27/49)	0,15

**Tabla 4 Resistencia a antimicrobianos en enterobacterias causantes de sepsis neonatal temprana y sepsis nosocomial**

Enterobacterias	% Resistencia (Cepas resistentes/Cepas analizadas)		
	Cepas aisladas en sepsis neonatal temprana (n: 30)	Cepas aisladas en sepsis nosocomial (n: 66)	p
Amikacina	3,3 (1/30)	18,2 (12/66)	0,04
Gentamicina	20,0 (6/30)	54,5 (36/66)	0,002
Ampicilina	81,4 (22/27)	92,5 (50/54)	0,13
Ampicilina/sulbactam	38,5 (10/26)	63,0 (34/54)	0,04
Piperacilina/tazobactam	20,0 (6/30)	27,3 (18/66)	0,45
Aztreonam	26,7 (8/30)	51,5 (34/66)	0,02
Ceftriaxona	36,7 (8/30)	53,0 (35/66)	0,02
Cefepime	36,7 (8/30)	50,0 (33/66)	0,03
Ciprofloxacina	16,7 (5/30)	15,2 (10/66)	0,85
Meropenem	16,7 (5/30)	25,8 (17/66)	0,32
Cotrimoxazol	30,0 (9/30)	42,4 (28/66)	0,25
BLEE (VITEK® 2)	12 (3/25)	30,2 (16/53)	0,08
BLEE (Doble disco)	12 (3/25)	27,5 (16/58)	0,12
Multi-resistencia	33,3 (10/30)	54,5 (36/66)	0,05

amikacina, gentamicina, ampicilina/sulbactam, aztreonam, ceftriaxona y cefepime en las bacterias de infecciones intrahospitalarias (Tabla 4).

Se hizo prueba de difusión con doble disco a 86,5% (83/96) de las enterobacterias; fueron positivas 22,9% (19/83). Las dos cepas de *Serratia marcescens* tuvieron prueba negativa y dos de las cepas de *Enterobacter cloacae* mostraron producción de BLEE.

Entre los RNs con infección por enterobacterias, se observó que el presentar una valoración de Apgar ≤ 7 a los cinco minutos de vida,

incrementa el riesgo de aislamiento de EP-BLEE (OR 4,6; IC 95% 1,47-14,6). (Tabla 5) Al comparar los pacientes infectados por EP-BLEE con los no infectados se observó asociación significativa con la edad gestacional < 37 semanas (OR 5,4; IC 95% 1,04 -27,7) y con la valoración de Apgar ≤ 7 a los cinco minutos de vida (OR 3,5; IC 95% 1,33-8,99) (Tabla 6).

De los 1.501 pacientes estudiados, murieron 12,9% (n: 193). En los neonatos con sepsis temprana y/o tardía murieron 26,6% (41/154); de

**Tabla 5. Comparación de características demográficas y clínicas de pacientes con infección por enterobacterias productoras y negativas a β-lactamasas de espectro extendido**

	Sepsis neonatal por EP-BLEE n: 18 % (n)	Sepsis neonatal por entero- bacterias BLEE negativa n: 68 % (n)	Análisis bi-variado
			OR, IC 95% p
Edad gestacional < 37 semanas	83,3 (15)	70,6 (48)	2,08; 0,54 - 7,99 0,28
Apgar ≤ 7 a los cinco minutos	44,4 (8)	14,7 (10)	4,64; 1,47 - 14,6 0,009
Peso al nacimiento ≤ 2.500 g	77,8 (14)	72,1 (49)	1,35; 0,40 - 4,65 0,63
Factores de riesgo maternos	22,2 (4)	22,1 (15)	1,01; 0,29 - 3,52 0,98
Nacimiento por cesárea	44,4 (8)	66,2 (45)	0,41; 0,14 - 1,18 0,10
Antimicrobianos prenatales	38,9 (7)	50 (34)	0,64; 0,22 - 1,84 0,40

EP-BLEE: enterobacterias productoras de β-lactamasas de espectro extendido; OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza.



**Tabla 6 Comparación de características demográficas y clínicas de pacientes con infección por enterobacterias productoras de β-lactamasas de espectro extendido y pacientes sin infección**

	Sepsis neonatal por EP-BLEE n: 18 % (n)	Sin sepsis neonatal n: 1.347 % (n)	Análisis bi-variado	Análisis multivariado
			OR, IC 95%	
Edad gestacional < 37 semanas	83,3 (15)	36,5 (734)	5,99; 1,72 - 20,78	5,01; 1,43 - 17,61
Apgar ≤ 7 a los cinco minutos	44,4 (8)	14,6 (196)	4,70; 1,83 - 12,05	3,70; 1,42 - 9,60
Peso al nacimiento ≤ 2.500 g	77,8 (14)	50,2 (676)	3,47; 1,14 - 10,61	-
Factores de riesgo maternos	22,2 (4)	19,7 (266)	1,16; 0,38 - 3,56	-
Nacimiento por cesárea	44,4 (8)	62,4 (840)	0,48; 0,19 - 1,23	-
Antimicrobianos prenatales	38,9 (7)	44,9 (605)	0,78; 0,30 - 2,03	-

EP-BLEE: enterobacterias productoras de β-lactamasas de espectro extendido; OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza.

estas defunciones, 75,6% (n: 31) fueron atribuidas a la infección. Independientemente de la edad gestacional, el riesgo de muerte fue significativamente mayor en pacientes con sepsis neonatal temprana (OR 3,1; IC 95% 1,65-5,94) y/o con sepsis nosocomial (OR 1,69; IC 95% 1,04-2,75). La infección por bacilos gramnegativos mostró mayor probabilidad de muerte (OR 2,5; IC 95% 1,53-4,19); sin embargo, los pacientes infectados por EP-BLEE no mostraron diferencia con los infectados por enterobacterias no productoras de la enzima (OR 0,8; IC 95% 0,23-2,51).

En 67 cepas de *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *E. coli* se tuvieron simultáneamente pruebas de difusión con doble disco y VITEK® 2; se identificaron BLEE con prueba de doble disco en 17 cepas. Usando la prueba de doble disco como referencia, para el sistema automatizado VITEK® 2 se estimó una sensibilidad de 64,7% (11/17) y una especificidad de 94% (47/50).

## Discusión

En RNs internados en el HCGJIM, la principal etiología de sepsis neonatal fue enterobacterias, la mayoría resistentes a ampicilina y más de 40% a cefalosporinas de amplio espectro. El 22,9% fue productora de BLEE y 47,9% multi-resistentes.

En comparación con los patrones de resistencia registrados en los últimos cinco años en esta UCIN<sup>17</sup>, en eventos de sepsis neonatal nosocomial se observó un incremento significativo de la resistencia a amikacina (desde 1,4 a 18,2%; p < 0,001), piperacilina/tazobactam (desde 2,8 a 27,3%; p < 0,001) y meropenem (desde 1,3 a 25,8%; p < 0,001); no hubo diferencia en la prevalencia de BLEE (p 0,25).

De manera similar a nuestros resultados, Morfin-Otero y cols., (Méjico)<sup>5</sup>, identificaron BLEE en especies de *E.*

*coli* y *K. pneumoniae* con frecuencia de 16,3 y 26,9%, respectivamente. Para ambas especies, los antimicrobianos con mayor actividad *in vitro* fueron carbapenémicos y amikacina.

Pessoa-Silva y cols., (Brasil)<sup>7</sup>, cuantificaron colonización o infección neonatal por *K. pneumoniae* productora de BLEE en 54 y 3%, respectivamente, de los RNs hospitalizados en una UCIN. La infección fue más probable en pacientes colonizados (HR 5,19; IC 95% 1,58-17,08) y con catéter central (HR 13,89; IC 95% 2,71-71,30). En un análisis bi-variado, se observó mayor riesgo de infección en RNs con muy bajo peso al nacer (HR 4,58; IC 95% 1,50-14,0).

En pacientes del HCGJIM, se observó menor edad gestacional y peso al nacimiento en quienes presentaron sepsis neonatal; sin embargo, al comparar los pacientes infectados por EP-BLEE con los infectados por enterobacterias sin la enzima, no se observó diferencia de estas características. En forma similar a estos resultados, K. Kristóf y cols., (Hungría)<sup>18</sup>, no observaron diferencias al comparar las características demográficas y clínicas de RNs con infección por *Klebsiella* sp. productora y no productora de BLEE.

Cantey JB y cols.<sup>19</sup>, observaron durante el estudio de un brote por *K. pneumoniae* productora de BLEE, que los RN infectados o colonizados presentaron menor edad gestacional y peso al nacimiento, pero mediante análisis multivariado concluyeron que el riesgo se atribuye a una mayor estancia hospitalaria (p 0,009).

En nuestro estudio encontramos asociación de la infección por EP-BLEE y valoración de Apgar ≤ 7 a los 5 minutos de vida. Diferentes estudios han descrito esta escala como predictor de mortalidad neonatal<sup>20</sup>. Se ha planteado la hipótesis que la hipoxia en el RN afecta la mucosa intestinal y favorece la translocación bacteriana; incluso, estos pacientes presentan a largo plazo, mayor riesgo de enfermedades gastrointestinales<sup>21</sup>.



Le. J y cols.<sup>22</sup>, observaron que la exposición a cefotaxima (OR 33,7; IC 95% 1,02-1136,2) o ampicilina + gentamicina (OR 3,09; IC 95% 1,28-7,49) incrementa el riesgo de infección por EP-BLEE. Sharma D. y cols.<sup>23</sup>, advirtieron que el uso de antimicrobianos prenatales (p 0,05) incrementa la probabilidad de sepsis neonatal temprana por EP-BLEE. Herindrainy P. y cols.<sup>24</sup>, reportaron que el uso de antimicrobianos durante el embarazo favorece la infección neonatal por enterobacterias maternas productoras de BLEE (HR 2,2; IC 95% 1,1-4,5).

En RNs internados en el HCGJIM, 44,6% fueron expuestos a antimicrobianos prenatales, principalmente cefalotina y ampicilina. El 81,4% de las enterobacterias causantes de sepsis neonatal temprana fueron resistentes a ampicilina y 33,3% fueron multi-resistentes; al comparar las bacterias en función del antecedente del uso de antimicrobianos prenatales, no se identificaron diferencias. De manera similar a lo reportado por Stoll BJ. y cols.<sup>25</sup>, el uso de antimicrobianos prenatales disminuyó el riesgo de infección temprana por bacterias grampositivas; sin embargo, no se demostró disminución de la incidencia total de eventos.

El principal origen de los brotes de infección por EP-BLEE es la transmisión horizontal asociada a prácticas inadecuadas de lavado de manos<sup>26</sup>; González R y cols., (Venezuela)<sup>27</sup>, identificaron, durante un brote de infecciones neonatales causadas *K. pneumoniae* productora de BLEE, la misma cepa bacteriana en 20% de las manos del personal analizado, así como en soluciones jabonosas y en la llave de lavamanos. Otra fuente de infección o colonización neonatal es a través del contacto con personal sanitario o familiares con colonización del tracto digestivo. Herindrainy P y cols.<sup>24</sup>, detectaron colonización intestinal por EP-BLEE en 19,6% de las madres, mientras que Strenger V y cols.<sup>28</sup>, la identificaron en 18,4% de los contactos familiares. En los pacientes infectados, la colonización intestinal puede persistir hasta por un año.

Stapleton y cols.<sup>26</sup>, identificaron en una revisión sistemática, que los factores de riesgo para la presencia de brotes por EP-BLEE son la falta de personal médico, el alto consumo de antimicrobianos, la historia de brotes previos, los procesos inadecuados para el control de infecciones y el hacinamiento en las UCIN.

Las estrategias más aplicadas y sugeridas para la resolución de los brotes por EP-BLEE incluyen intervenciones múltiples simultáneas: re-educación del personal sobre la prevención de infecciones; vigilancia de la práctica de higiene de manos e higiene ambiental; precauciones de contacto; establecer cohortes de pacientes infectados o colonizados; evitar condiciones de hacinamiento y considerar la obtención de cultivos ambientales en la UCIN según características del brote e hipótesis de reservorio. Se debe implementar y vigilar un protocolo para colocar los

catéteres venosos centrales en adecuadas condiciones de asepsia y antisepsia; un uso racional de antimicrobianos y, en caso de tener brotes asociados con el uso de extractores de leche materna, se debe de realizar la descontaminación o restricción de los mismos<sup>19,26,29,30</sup>.

En RNs internados en el HCGJIM, el riesgo de muerte fue mayor en presencia de sepsis neonatal y entre los infectados por bacilos gramnegativos; sin embargo, la presencia de BLEE no modificó el riesgo de muerte entre las infecciones por enterobacterias. En forma similar a nuestros resultados, Tsai MH y cols.<sup>10</sup>, no encontraron incremento en la probabilidad de morir en función de las BLEE. Ndir A. y cols., (Senegal)<sup>3</sup>, describieron que la mayoría de pacientes con infección por EP-BLEE reciben un esquema antimicrobiano empírico inadecuado (94,2 vs. 5,7%, p < 0,0001), lo que incrementa la tasa de mortalidad (OR 2,9, IC 95% 1,8-7,3).

Se ha descrito que la presencia de BLEE se asocia a resistencia a antimicrobianos no β-lactámicos, posiblemente por trasmisión simultánea de múltiples mecanismos de resistencia entre bacterias de la misma o diferente especie<sup>31,32</sup>.

Limitaciones de este estudio son: el haberse realizado con una muestra hospitalaria que puede ser diferente a la población de la cual procede y un escaso número de infecciones causadas por EP-BLEE, lo que dificulta la identificación de condiciones con menor fuerza de asociación.

## Conclusiones

En enterobacterias causantes de sepsis neonatal, 88,8% mostró resistencia a ampicilina, 47,9% fue multi-resistente y 22,9% mostró fenotipo BLEE. La infección por EP-BLEE fue más probable en pacientes con Apgar ≤ 7 a los cinco minutos de vida y en neonatos prematuros.

*Agradecimientos:* A Lic. Elba Patricia Ascencio Esparza Q.E.P.D.

## Resumen

**Introducción:** Las infecciones causadas por enterobacterias productoras de β-talactamasas de espectro extendido (EP-BLEE) tienen implicaciones sobre la morbilidad y mortalidad neonatal. **Objetivo:** Describir la prevalencia de EP-BLEE en sepsis neonatal y los factores asociados. **Métodos:** Estudio de cohorte prospectivo, desde agosto del 2016 a agosto del 2017. Se incluyeron recién nacidos (RN) ingresados en el Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca”. Mediante prueba de difusión de doble disco se indagó la presencia de EP-BLEE y su asociación

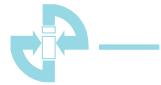


con características clínicas y demográficas de los RNs. **Resultados:** Se estudiaron 1.501 RNs hospitalizados, con edad gestacional promedio de 36,3 semanas. Se diagnosticaron 196 eventos de sepsis neonatal, la etiología más frecuente fueron enterobacterias (45,5%); 88,8% demostraron resistencia a ampicilina y más de 42% a cefalosporinas de amplio espectro. El 22,9% presentó fenotipo

BLEE positivo. Tener Apgar  $\leq 7$  a los cinco minutos de vida (OR 4,6; IC 95% 1,47–14,6) y edad gestacional  $< 37$  semanas (OR 5,4; IC 95% 1,04–27,7) incrementaron el riesgo. **Conclusión:** En las enterobacterias causantes de sepsis neonatal, 22,9% son EP-BLEE; la infección es más probable en pacientes con Apgar  $\leq 7$  a los cinco minutos de vida y en prematuros.

## Referencias bibliográficas

- 1.- Ghafourian S, Sadeghfard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended spectrum beta-lactamases: Definition, classification and epidemiology. *Curr Issues Mol Biol* 2015; 17: 11-21. PMID: 24821872.
- 2.- Opal S, Pop-Vicas A. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacterias. En: Mandell G, Bennett J, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2015. Págs. 235-51.
- 3.- Ndir A, Diop A, Faye P M, Cissé M F, Ndoye B, Astagneau P. Epidemiology and burden of bloodstream infections caused by extended-spectrum beta lactamase producing *Enterobacteriaceae* in a pediatric hospital in Senegal. *PLoS ONE* 2016; 11 (2): 1-13. doi: 10.1371/journal.pone.0143729.
- 4.- Marando R, Seni J, Mirambo M M, Falgenhauer L, Moremi N, Mushi M F, et al. Predictors of the extended-spectrum-beta lactamases producing *Enterobacteriaceae* neonatal sepsis at a tertiary hospital, Tanzania. *Int J Med Microbiol* 2018; 308 (7): 803-11. doi: 10.1016/j.ijmm.2018.06.012.
- 5.- Morfin-Otero R, Mendoza-Olazarán S, Silva-Sánchez J, Rodríguez-Noriega E, Laca-Díaz J, Tinoco-Carrillo P, et al. Characterization of *Enterobacteriaceae* isolates obtained from a tertiary care hospital in Mexico, which produces extended-spectrum β-lactamase. *Microb Drug Resist* 2013; 19 (5): 378-83. doi: 10.1089/mdr.2012.0263.
- 6.- Miranda G, Castro N, Leaños B, Valenzuela A, Garza-Ramos U, Rojas T, et al. Clonal and horizontal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* expressing SHV-5 extended-spectrum beta-lactamase in a Mexican pediatric hospital. *J Clin Microbiol* 2004; 42 (1): 30 - 5. doi: 10.1128/JCM.42.1.30-35.2004.
- 7.- Pessoa-Silva C L, Meurer Moreira B, Câmara Almeida V, Flannery B, Almeida Lins M C, Mello Sampaio J L, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit: risk factors for infection and colonization. *J Hosp Infect* 2003; 53 (3): 198 - 206. PMID: 12623321.
- 8.- Huerta-García G C, Miranda-Novales G, Díaz-Ramos R, Vázquez-Rosales G, Solórzano-Santos F. Intestinal colonization by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in infants. *Rev Invest Clin* 2015; 67 (5): 313 - 7. PMID: 26696335.
- 9.- Zhang F, Cui X, Fu Y, Zhang J, Zhou Y, Sun Y, et al. Antimicrobial activity and mechanism of the human milk-sourced peptide Casein201. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 485 (3): 698-704. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.02.108.
- 10.- Tsai M H, Lee I T, Chu S M, Lien R, Huang H R, Chiang MC, et al. Clinical and molecular characteristics of neonatal extended-spectrum β-lactamase-producing gram-negative bacteremia: A 12-year case-control-control study of a referral center in Taiwan. *PLoS One* 2016; 11 (8): e0159744. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159744.
- 11.- Tamma P, Rodríguez-Bano J. The use of noncarbapenem β-lactams for the treatment of extended-spectrum β-lactamase infections. *Clin Infect Dis* 2017; 64 (7): 972-80. doi: 10.1093/cid/cix034.
- 12.- Pérez R O, Lona J C, Quiles M, Verdugo M A, Ascencio E P, Benítez E A. Sepsis neonatal temprana, incidencia y factores de riesgo asociados en un hospital público del occidente de México. *Rev Chilena Infectol* 2015; 32 (4): 387-92. http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000500003.
- 13.- Consejo de Salubridad General. Prevención, diagnóstico y tratamiento de sepsis y choque séptico del recién nacido en el segundo y tercer nivel de atención. México: Secretaría de Salud; noviembre 2012. (Documento en línea) Referido en marzo de 2016; (107 páginas en pantalla). Disponible en: [http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/283\\_GPC\\_SepsisNeonatal/SS-283-12\\_RER\\_SEPSIS\\_Y\\_CHOQUE\\_SxPTICO\\_RN.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/283_GPC_SepsisNeonatal/SS-283-12_RER_SEPSIS_Y_CHOQUE_SxPTICO_RN.pdf).
- 14.- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
- 15.- Garrec H, Drieux-Rouzet L, Golmard J L, Jarlier V, Robert J. Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum beta-lactamase production by *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (3): 1048-57. doi: 10.1128/JCM.02130-10.
- 16.- Spanu T, Sanguinetti M, Tumbarello M, D'Inzeo T, Fiori B, Posteraro B, et al. Evaluation of the New VITEK 2 extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) test for rapid detection of ESBL production in *Enterobacteriaceae* isolates. *J Clin Microbiol* 2006; 44 (9): 3257-62. doi: 10.1128/JCM.00433-06.
- 17.- Lona Reyes J C, Verdugo Robles M Á, Pérez Ramírez R O, Pérez Molina J J, Ascencio Esparza E P, Benítez Vázquez E A. Etiology and antimicrobial resistance patterns in early and late neonatal sepsis in a Neonatal Intensive Care Unit. *Arch Argent Pediatr* 2015; 113 (4): 317-23. doi: 10.5546/aap.2015.317.
- 18.- Kristóf K, Szabó D, Marsh JW, Cser V, Janik L, Rozgonyi F, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella* spp. in a neonatal intensive care unit: risk factors for the infection and the dynamics of the molecular epidemiology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 26 (8): 563-70. doi: 10.1007/s10096-007-0338-9.
- 19.- Canney J B, Sreeramoju P, Jaleel M, Treviño S, Gander R, Hynan L S, et al. Prompt control of an outbreak caused by extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr* 2013; 163 (3): 672-9. e1-3. doi: 10.1016/j.jpeds.2013.03.001.
- 20.- Chattingius S, Norman M, Granath F, Petersson G, Stephansson O, Frisell T. Apgar score components at 5 minutes: risks and prediction of neonatal mortality. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2017; 31 (4): 328-37. doi: 10.1111/ppe.12360.
- 21.- Leybovitz-Haleluya N, Wainstock T, Sheiner E, Segal I, Landau D, Walfisch A. Low Apgar scores in term newborns and long-term gastro-intestinal morbidity: a population-based cohort study with up to 18 years of follow-up. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2017; 7: 1-6. doi: 10.1080/14767058.2017.1411475.
- 22.- Le J, Nguyen T, Okamoto M, McKamy S, Lieberman J M. Impact of empiric antibiotic use on development of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase bacteria in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27 (4): 314-8. doi: 10.1097/INF.0b013e3181606850.



- 23.- Sharma D, Kumar C, Pandita A, Pratap O T, Dasi T, Murki S. Bacteriological profile and clinical predictors of ESBL neonatal sepsis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; 29 (4): 567-70. doi: 10.3109/14767058.2015
- 24.- Herindrainy P, Rabenandrasana M, Andrianirina Z, Rakotoarimanana F, Padget M, de Lauzanne A, et al. Acquisition of extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in neonates: A community based cohort in Madagascar. *PLoS ONE* 2018; 13 (3): 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193325>.
- 25.- Stoll B J, Hansen N, Fanaroff A A, Wright L L, Carlo W A, Ehrenkranz R A, et al. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med* 2002; 347 (4): 240-7. doi: 10.1056/NEJMoa012657.
- 26.- Stapleton P J, Murphy M, McCallion N, Brennan M, Cunney R, Drew R J. Outbreaks of extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in neonatal intensive care units: a systematic review. *Arch Dis Child* Fetal Neonatal Ed 2016; 101 (1): F72-8. doi: 10.1136/archdischild-2015-308707.
- 27.- González R A C, Gil G F, Solórzano R M, Cruz G J, Puig P J, Suárez S M, et al. Brote por *Klebsiella pneumoniae* multiresistente y productora de β-lactamasa de espectro extendido en una unidad de alto riesgo neonatal. *Rev Chilena Infectol* 2011; 28 (1): 28-34. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182011000100005>.
- 28.- Strenger V, Feierl G, Resch B, Zarfel G, Grisold A, Masoud-Landgraf L, et al. Fecal carriage and intrafamilial spread of extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* following colonization at the neonatal ICU. *Pediatr Crit Care Med* 2013; 14 (2): 157-63. doi: 10.1097/PCC.0b013e31824ea2a2.
- 29.- Li X, Xu X, Yang X, Luo M, Liu P, Su K, et al. Risk factors for infection and/or colonisation with extended-spectrum β-lactamase-producing bacteria in the neonatal intensive care unit: a meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 50(5): 622-8. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.06.027.
- 30.- Delerue T, de Pontual L, Carbonnelle E, Zahar J R. The potential role of microbiota for controlling the spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* (ESBL-PE) in neonatal population. *F1000Res* 2017; 6: 1217. doi: 10.12688/f1000research.10713.1.
- 31.- Garcia C, Astocondor L, Rojo-Bezares B, Jacobs J, Sáenz Y. Molecular characterization of extended-spectrum β-lactamase-producer *Klebsiella pneumoniae* isolates causing neonatal sepsis in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 2016; 94(2): 285-8. doi: 10.4269/ajtmh.15-0373.
- 32.- Mshana S E, Hain T, Domann E, Lyamuya E F, Chakraborty T, Imirzalioglu C. Predominance of *Klebsiella pneumoniae* ST14 carrying CTX-M-15 causing neonatal sepsis in Tanzania. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 466. doi: 10.1186/1471-2334-13-466.