



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

MONITORIZACIÓN CONTINÚA DE LA COLONIZACIÓN POR BACTERIAS MULTIRRESISTENTES
EN UNA UNIDAD NEONATAL DE CUIDADOS INTENSIVOS.
RELACIÓN ENTRE COLONIZACIÓN E INFECCIÓN



Tesis Doctoral
M^a Nieves Larrosa Escartín
Barcelona, 2016



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**MONITORIZACIÓN CONTINÚA DE LA COLONIZACIÓN POR BACTERIAS
MULTIRRESISTENTES EN UNA UNIDAD NEONATAL DE CUIDADOS INTENSIVOS.
RELACIÓN ENTRE COLONIZACIÓN E INFECCIÓN.**

M^a Nieves Larrosa Escartín

Barcelona, 2016

Memoria realizada para optar al grado de Doctor en Microbiología



Tesis Doctoral

MONITORIZACIÓN CONTINÚA DE LA COLONIZACIÓN POR BACTERIAS
MULTIRRESISTENTES EN UNA UNIDAD NEONATAL DE CUIDADOS
INTENSIVOS. RELACIÓN ENTRE COLONIZACIÓN E INFECCIÓN.

Realizada por

M^a Nieves Larrosa Escartín

Para optar al grado académico de

Doctor

Trabajo realizado en el Servicio de Microbiología del Hospital Vall d'Hebron de
Barcelona, Grupo de Investigación del Institut de Recerca del Hospital Vall d'Hebron,
bajo la dirección de

Dr. Guillem Prats Pastor

Dra. Rosa M^a Bartolomé Comas

Tesis adscrita al Departamento de Genética y Microbiología de la
Universitat Autònoma de Barcelona

M^a Nieves Larrosa Escartín Dr. Guillem Prats Pastor Dra. Rosa M^a Bartolomé Comas

Barcelona, Junio de 2016

“Cuando menos lo esperamos, la vida nos coloca delante un desafío que pone a prueba nuestro coraje y nuestra voluntad de cambio”

Paulo Coelho

“A Francisco, que espera volver a recuperar los fines de semana y a mis hijas para que algún día entiendan que todo lo valioso cuesta esfuerzo.
A mis padres y hermanos entre los cuales incluyo a Rosa y a Miguel.
Sin vosotros no hubiera podido llegar hasta aquí.
A todos los niños que nacen antes de tiempo o con problemas y a sus familias”

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Prof. Guillem Prats y a la Prof. Rosa M^a Bartolomé la dirección de la tesis. Sin vosotros y sin vuestro apoyo yo no sería profesionalmente como soy y por supuesto no hubiera podido con este proyecto y otros muchos relacionados con la microbiología.

Quiero hacer evidente y agradecer las facilidades que me ha dado el Prof. Tomàs Pumarola para el desarrollo de la misma. Gracias Tomàs por darme tu confianza y un amplio margen de libertad para desarrollar nuestro trabajo.

También quiero agradecer muy especialmente al Dr. Juan-José González y por supuesto a Thais Cornejo y Nuria Piedra por su amistad y ayuda constante. No tengo palabras para poder expresar lo que ha significado vuestra compañía en este proceso. No quiero olvidar a otras personas que ya no están en el laboratorio pero que en algún momento también han contribuido a este trabajo la Dra. Montserrat Sabaté, la Dra. Alicia Coelho (tan lejos pero siempre cerca), la Dra. Natalia Mendoza y la Dra. Eva Moreno así como a María Massanés.

Discreta pero persistente, la Dra. Anna M^a Planes ha estado pendiente permanentemente del desarrollo de este proyecto.

Esta tesis no la hubiera podido desarrollar tampoco sin la extraordinaria ayuda que me ha prestado el personal de la sección de antibiogramas, Dra. Belén Viñado y las Sras. Dolors Viu (siempre atenta a mis despistes), M^a José Albarado, Yolanda Roca y Belén Perdomo y aunque no sean estrictamente de la unidad, también al Dr. Ernesto Crespo y a José y a Marisa por enseñarme a identificar bacterias en tiempos en que ni la proteómica ni la genómica resolvían nuestro día a día.

Las Dras. Beatriz Mirelis y Alba Rivera del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, amigas y referentes en el estudio de la resistencia, han estado como siempre, para absolutamente todas mis dudas conceptuales.

Otras muchas personas han colaborado de una manera muy eficiente y desinteresada desde los inicios, entre ellas quiero destacar al Dr. Salvador Salcedo que me dejó realizar el trabajo en su unidad, a la Dra. Mai Figueras que me ha enseñado todo lo que se de infectología pediátrica, al Dr. Carlos Rodrigo que ya antes de venir al hospital resolvía mis dudas sobre la patología neonatal, a la Dra. Magda Campins que además de ayudarme en el diseño siempre me ha prestado su apoyo y muy especialmente a los Dres. Xavier Martínez y José Ángel Rodrigo que han cargado con ese trabajo, la mayoría de las veces anónimo pero siempre imprescindible y fundamental del estudio estadístico y han estado siempre disponibles para ayudarme.

Quiero reiterar el agradecimiento a toda mi familia, a los que están y a los que me hubiera encantado que hoy estuvieran, a Carmelo y a Teresa, a mis pacientes amigas de siempre que han estado apoyándome en todo momento y a mis compañeros del laboratorio de Microbiología por hacerme fácil el día a día y contribuir a que me guste tanto esta profesión.

GLOSARIO

AFLP	<i>Amplified fragment length polymorphism</i>
AmpC	Cefaloporinasa de tipo AmpC (betalactamasa de clase C)
cAmpC	Betalactamasa AmpC cromosómica
pAmpC	Betalactamasa AmpC plasmídica
BEA	Bilis, esculina y azida sódica
BGN	Bacilo gramnegativo
BGN-NF	Bacilos gramnegativos no fermentadores
BLEE	Betalactamasa de espectro extendido
BMR	Bacteria multirresistente
BSI	<i>Bloodstream infection</i> o infección del torrente sanguíneo
CBP	Carbapenemasa
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CON	Conjuntivitis
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CMI	Concentración mínima inhibitoria
C1G, C2G, C3G, C4G	Cefalosporinas de primera, segunda, tercera o cuarta generación
DI	Densidad de incidencia
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
ECN	Enterocolitis necrotizante
EPCN	Estafilococo plasmocoagulasa negativa
ESI-TOF MS	<i>Electrospray ionization mass spectrometry</i>
FN	Flora normal
g.	Gramos
GISA	<i>S. aureus</i> con bajo nivel de resistencia a glicopéptidos
IN	Infección nosocomial
IP	Periodo de vigilancia pasiva o interperiodo
ITU	Infección del tracto urinario
LCR	Líquido cefalorraquídeo
MALDI-TOF	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization</i> o desorción/ionización láser asistida por matriz
MEN	Meningitis
MLST	Multilocus sequence typing

MLVA	Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis
MRSA	<i>S. aureus</i> resistente a meticilina
MDR	Multirresistente
ml	Mililitro
mm	Milímetro
NAV	Neumonía asociada a ventilación mecánica
NNIS	National Nosocomial Infections Surveillance System
PBP	Proteínas fijadoras de penicilina
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDR	Panresistente
PFGE	Electroforesis en campo pulsado
PIE	Perforación intestinal espontánea
PIEL	Infección de piel y partes blandas
PVA	Periodo de vigilancia activa
RAPD	Random Amplification of Polymorphic DNA o amplificación aleatoria de ADN polimórfico
REP-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa de secuencias de ADN repetidas
SRIS	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
UCI	Unidad de cuidados intensivos
UCIN	Unidad de cuidados intensivos neonatal
UCIP	Unidad de cuidados intensivos pediátrica
ufc	Unidades formadoras de colonias bacterianas
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
VISA	<i>S. aureus</i> con resistencia intermedia a la vancomicina
VRE	Enterococo resistente a vancomicina
VRSA	<i>S. aureus</i> resistente a vancomicina
XDR	Extremadamente resistente

ÍNDICE

GLOSARIO.....	I
ÍNDICE.....	
1. Introducción.....	3
Infecciones postnatales en las UCIN.....	6
Epidemiología de la infección nosocomial postnatal	6
Agentes causales de las infecciones nosocomiales.....	7
Principales infecciones postnatales.....	20
Bacterias resistentes.....	30
Concepto de multirresistencia.....	31
Difusión de las bacterias resistentes.....	33
Multirresistencia en las UCIN.....	33
Establecimiento de la flora normal.....	54
Características y adquisición de la FN	54
Acción de los antibióticos.....	57
Colonización por BMR.....	58
Consecuencias de la colonización.....	61
Medidas de control de las BMR.....	62
2. Objetivos.....	64
3. Material y Métodos.....	65
Unidad de cuidados intensivos neonatales.....	65
Periodos de estudio y de interestudio.....	65
Pacientes	68
Investigación de BMR.....	68
Detección de portadores.....	69
Muestras para los cultivos de vigilancia o de control de portadores.....	70
Muestras clínicas	70
Microorganismos multirresistentes.....	70
Identificaciones.....	71
Antibiogramas y otras técnicas de estudio de resistencia.....	72
Estudio epidemiológico de las cepas aisladas.....	77
Archivo de cepas.....	79
Análisis estadístico.....	80

4. Resultados y discusión.....	81
Ap. 1 Descripción de la población, de los cultivos y de la flora MR intestinal.....	82
Ap. 2 Control prospectivo de la flora MR intestinal. Relaciones temporales entre los niños colonizados.....	87
Ap. 3 Detección secuencial de la colonización. Dinámica de la transmisión de las cepas epidémicas.....	93
Ap. 4 Infecciones diagnosticadas en el periodo de estudio. Colonización por BMR como paso previo a la infección.....	135
5. Conclusiones.....	158
6. Referencias.....	161
7. Anexos.....	179
Anexo 1.....	179
Anexo 2.....	180
Anexo 3.....	187
Anexo 4.....	188
Anexo 5.....	192

INTRODUCCIÓN

Las infecciones neonatales despiertan una justificada preocupación tanto en la familia de los niños como en el personal sanitario. Esto es debido al grave pronóstico de algunas de ellas en relación a la supervivencia y a las posibles secuelas y motiva el que sean objeto de numerosos estudios para su prevención y tratamiento (1,2).

Diversas sociedades científicas pediátricas clasifican las infecciones del periodo neonatal -que se extiende a lo largo de los 28 primeros días de vida- según diversos criterios, bien sea basándose en el momento de la aparición de las manifestaciones clínicas o en el mecanismo de transmisión (3).

Dado el objetivo de esta Tesis hemos creído oportuno abordar las infecciones según un criterio de clasificación basado en el momento de la adquisición de la infección y en el agente causal. Siguiendo este criterio, consideramos infecciones prenatales a las adquiridas durante el embarazo por vía transplacentaria; perinatales a las adquiridas durante el parto y postnatales a las que se adquieren después del nacimiento generalmente por transmisión horizontal a partir del entorno del paciente, del personal sanitario, del instrumental o de otros reservorios o fómites (4).

Aunque se consideran infecciones posnatales las que se producen después del nacimiento hasta el día 28 (periodo neonatal) muchos niños permanecen ingresados en el hospital, y en particular en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), más allá del primer mes de vida. Así pueden adquirir infecciones que en muchos aspectos (mecanismo de adquisición y agentes causales) son semejantes a las infecciones del periodo postnatal clásico.

Los agentes causales de las principales infecciones prenatales y perinatales se muestran en la Tabla 1 (5). Cabe destacar que la mayoría de los microorganismos causales de estas infecciones son patógenos primarios.

Las infecciones postnatales, por el contrario, están causadas en gran parte por los microorganismos que forman parte de la flora normal humana o del medio ambiente, como *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, enterobacterias como *E. coli* y diversas especies de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, así como por bacilos gramnegativos aerobios estrictos cuyos principales exponentes son *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. También pueden estar involucrados en estas infecciones los enterococos y las candidas (6). Ver tabla 1.

Las manifestaciones clínicas de las infecciones postnatales varían según la localización de la infección, el agente causal, el estado general del niño, la existencia de enfermedades de base y los tratamientos que se le administran.

Como se acaba de indicar, las infecciones adquiridas durante el periodo postnatal están producidas por bacterias que forman parte de la flora humana normal o del medio ambiente, con escasa o nula capacidad patógena primaria aunque pueden existir diferencias en la virulencia entre especies (*S. aureus* versus *S. epidermidis*) o entre grupos clonales intraespecíficos que son poco conocidas. Con toda probabilidad la mayoría de las infecciones clínicamente expresivas están precedidas por la colonización previa por la bacteria causal y se deben a la débil capacidad defensiva del paciente. El objetivo principal de esta Tesis es determinar la relación entre la colonización postnatal y la enfermedad en los pacientes de una Unidad de Cuidados Intensivos neonatales (UCIN).

Tabla 1: Agentes de infección neonatal según el momento de su adquisición (7).

Patógeno	Prenatal	Perinatal	Postnatal
Virus			
Citomegalovirus	X	X	X
Enterovirus	Raro	X	X
V. de la hepatitis B	Raro	X	
V. del herpes simple	Raro	X	
VIH	X	X	X
Parvovirus B19	X		
V. de la rubéola	X		
V. de la varicela zoster	X	X	X
Bacterias			
<i>Chlamydia trachomatis</i>		X	
<i>Streptococcus agalactiae</i>		X	X
Enterococos		X	X
Enterobacterias		X	X
<i>Listeria monocytogenes</i>	X	X	X
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		X	
<i>S aureus</i>			X
<i>S epidermidis</i> y otros EPCN			
<i>Treponema pallidum</i>	X		
<i>Ureaplasma urealyticum</i>		X	
Hongos			
Cándida		X	X
Protozoos			
<i>Toxoplasma gondii</i>	X		

Se muestran los principales agentes de infección adquiridos en cada una de las tres etapas que conforman el periodo neonatal. Algunos de estos microorganismos pueden adquirirse en periodos que no son los característicos señalados en esta tabla.

VIH Virus de la inmunodeficiencia humana. EPCN Estafilococos plasmocoagulasa negativa.

INFECCIONES POSTNATALES EN LAS UNID. DE CUIDADOS INTENSIVOS

La mayoría de las infecciones adquiridas en el periodo postnatal en niños ingresados en las UCI, y en especial en las UCI para prematuros, son infecciones oportunistas facilitadas por diversos factores predisponentes locales y generales del paciente.

La fragilidad cutánea característica del recién nacido favorece las erosiones y la entrada de los microorganismos a través de la piel. Los catéteres endovasculares, sondas urinarias y otros instrumentos utilizados para el tratamiento o control de los pacientes producen la ruptura anatómica y/o fisiológica de las barreras cutáneo mucosas y constituyen vías para la penetración de los microorganismos.

Asociados o no a esos factores locales existen factores predisponentes generales entre los que destaca la inmadurez del sistema inmunológico (bajo nivel de actividad del complemento y de los granulocitos, así como una menor eficacia de los procesos de quimiotaxis, de endocitosis y de la función de los linfocitos T y B asociada a una tasa de inmunoglobulinas deficiente). Los estudios que comparan las funciones de la inmunidad natural de los neonatos con los niños mayores de dos años o los adultos, muestran un funcionamiento inmaduro de todas las líneas de la defensa inmunológica que aumenta el riesgo de infecciones bacterianas y víricas (8). Otro factor facilitador de las infecciones en estos niños es la administración de corticoides u otros inmunosupresores.

EPIDEMIOLOGIA DE LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL POSTNATAL

Existen pocos datos disponibles en la literatura acerca de la incidencia de la infección nosocomial (IN) en las Unidades de Cuidados Intensivos neonatales españolas. Molina-Cabrillana y colaboradores (9), siguiendo los criterios del CDC, controlaron las infecciones en los niños ingresados en una UCIN de Las Palmas de Gran Canaria determinando la densidad de incidencia de las infecciones (DI). Este es un parámetro que cuantifica la producción de un suceso (infección) por persona y unidad de tiempo, por ejemplo, persona año. Estos autores comunicaron que entre junio de 1999 y marzo de 2005 la DI fue de 16,3 episodios por 1000 días de estancia/paciente. La mortalidad en el subgrupo de infectados fue del 8,7% (mortalidad global del 6,6%). En la UCIN del Hospital San Joan de Deu de Barcelona, Urrea y colaboradores (10), tras analizar un

periodo de 6 meses del año 2000 comunican también una DI de las infecciones nosocomiales de 16 episodios por 1000 pacientes/día.

En un trabajo efectuado en la UCIN del Hospital Italiano de Buenos Aires entre los años 2006 y 2008 se refiere una DI de 6,23 episodios por cada 1000 pacientes/día (11) y otro que recoge datos de 9 hospitales de la región de la Alsacia francesa en el año 2007, una DI de infección de 6,19/1000 nacidos vivos/día (12).

El tanto por ciento de prevalencia de infección nosocomial en la UCIN del Hospital Vall d'Hebron en el año 2012, fue del 18% (Comunicación personal Servicio de Medicina Preventiva del Hospital Vall d'Hebron).

Otras series como la publicada por la red SEN1500 (<http://www.seneonatal.es/Comisionesygruposdetrabajos/Redesneonatales/SEN1500/tabid/123/Default.aspx>), dependiente de la Sociedad Española de Neonatología que recoge datos del año 2006 de 2466 niños de < 1500 g. ingresados en 63 centros, reflejan una prevalencia de infección tardía de casi el 30%; y en los últimos datos publicados, en el año 2012 que evalúan 2448 niños de 59 centros la prevalencia fue del 29,2%. La prevalencia de infección precoz se calculó en un 3,5% y un 4,4% respectivamente.

Los datos de incidencia recogidos mediante el sistema de vigilancia alemán NEO-KISS en 52 unidades neonatales entre los años 2000 a 2005 muestran la existencia de 6,5 bacteriemias por 1000 días de cateterización (8,5 en niños de muy bajo peso al nacimiento), 2,7 episodios de neumonía por 1000 pacientes intubados/día y 0,9 episodios de enterocolitis necrotizante por 1000 pacientes/día (13).

AGENTES CAUSALES DE LAS INFECCIONES NOSOCOMIALES

Los microorganismos que pueden causar infecciones postnatales son numerosos y diversos. Su descripción microbiológica y su acción patógena se presenta extensamente en diferentes textos de referencia de microbiología y de patología infecciosa (7,14–16).

Los principales agentes causantes de infección postnatal, son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y otras especies de estafilococos coagulasa negativa, los enterococos, los estreptococos, las enterobacterias, diversas especies de bacilos

gramnegativos no fermentadores y algunas levaduras. La incidencia de estos microorganismos se ve modificada por el perfil epidemiológico de cada centro asistencial, que varía en el tiempo, aunque pueden también existir cepas endémicas que persisten durante mucho tiempo (Ver tabla 2).

Tabla 2: Principales microorganismos causantes de infección nosocomial en UCIN.

Microorg.	BSI	NAV	ITU	MEN	ECN / PIE	CON	PIEL
EPCN*	+++			++		+++*	
<i>S. aureus</i>	++	++				+++	+++
Enterobacterias (<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> ...)	++	+++	+++	+++	+++	++	++
<i>P. aeruginosa</i>	+	+++	++			++	++
Enterococos	+		++				
Levaduras <i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i>	+		++				
Otros hongos							Zygomycetes
Virus					Coxsackie B2, coronavirus, rotavirus y norovirus		VHS, enterovirus

EPCN: estafilococos plasmocoagulasa negativa; BSI: bacteriemia, NAV: neumonía asociada a ventilación mecánica, ITU: infección del tracto urinario, MEN: meningitis, ECN/PIE: enterocolitis necrosante/ perforación intestinal espontánea, CON: conjuntivitis; PIEL: infección de piel y partes blandas; +++ muy frecuente; ++ frecuente; + ocasional.

* El papel etiológico de EPCN en las conjuntivitis ha de valorarse con cautela.

En el breve resumen que sigue solo se hace referencia a los microorganismos que poseen mayor interés por su frecuencia y a los que hemos encontrado en el trabajo de campo realizado.

Staphylococcus aureus

El género *Staphylococcus* está formado por cocos grampositivos aerobios y anaerobios facultativos, catalasa positiva. Estas bacterias crecen en medios con elevadas concentraciones de cloruro sódico, lo que permite su aislamiento selectivo (medio de Chapman), y se encuentran entre las bacterias más resistentes entre las no esporuladas, por lo que pueden permanecer viables en el medio ambiente durante varios días. Este género incluye varias especies, entre las que destaca *Staphylococcus aureus* que se caracteriza por producir las enzimas plasmocoagulasa y termonucleasa (DNasa) y poseer elevada virulencia. El resto de especies de este género (con excepciones) constituyen un grupo que se denomina “estafilococos plasmocoagulasa negativa” ya que no producen esta enzima (ver más adelante).

La identificación de las diferentes especies del género se hace por pruebas metabólicas, proteómicas o genéticas.

Esta bacteria puede adquirir resistencia a diversos antibióticos, en particular a la meticilina (MRSA) e incluso ser multirresistente, como se indicará más adelante. La identificación de la especie *S. aureus* y la detección simultánea de su resistencia a la meticilina, que posee gran interés terapéutico y epidemiológico, puede determinarse en unos minutos por pruebas genéticas rápidas.

Se han utilizado muchos sistemas para el tipado de *S. aureus*; algunos como el fagotipado ya en desuso. Actualmente el tipado se hace mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE), pero como en otros microorganismos posee poco valor para determinar la estructura poblacional, que se determina mejor por la técnica de “Multilocus sequence typing” (MLST). En las cepas de MRSA puede efectuarse el subtipado secuenciando el cassette *SCCmec* y actualmente se están desarrollando nuevos sistemas de tipado basados en técnicas proteómicas (MALDI-TOF o ESI-TOF MS).

S. aureus es la especie más virulenta dentro del género ya que produce una gran cantidad de exoenzimas que le permiten causar infecciones invasivas (piógenas) de diversa localización, procesos toxigénicos por la producción de exotoxinas, como diarrea (enterotoxinas), el síndrome de la piel escaldada (exfoliatinas) y enfermedades por mecanismo inmunitario, como el shock tóxico.

Las infecciones causadas por *S. aureus* afectan a personas de todas las edades, aunque son muy frecuentes en niños. En la comunidad causa muy diversos procesos infecciosos de carácter invasivo como forunculosis, impétigo, celulitis, abscesos cutáneos y subcutáneos e infecciones oculares, así como infecciones en diversos órganos profundos alcanzados directamente a través de heridas infectadas, por contigüidad o bien a través de la sangre. La bacteriemia es frecuente y grave y, como se ha indicado, puede causar metástasis, en particular en el pulmón, los huesos largos y las articulaciones.

Aunque los estafilococos coagulasa negativa son los agentes causales más frecuentes de infección a través de catéteres endovasculares centrales, *S. aureus* es más frecuente en los catéteres periféricos. Asimismo, es causante de infecciones a través de las derivaciones y drenajes del sistema nervioso central.

En medio hospitalario y en residencias de ancianos, *S. aureus* es un patógeno muy frecuente e importante por su virulencia y resistencia, pudiendo establecerse en estos centros cepas endémicas multirresistentes. En pediatría también es un patógeno muy relevante, en particular en las unidades de cuidados intensivos, donde causa infecciones de heridas quirúrgicas, neumonía y bacteriemia entre otros procesos.

Estafilococos plasmocoagulasa negativa

Constituyen un grupo formado por diferentes especies entre las que predomina *Staphylococcus epidermidis* como causantes de infecciones en el hombre. Por definición no producen la enzima coagulasa, lo que les diferencia de *S. aureus*, que es coagulasa positiva. Este carácter es un indicador subrogado de que son cepas poco virulentas, salvo excepciones (como *S. lugdunensis* y *S. saprophyticus*). Su identificación a nivel de especie requiere pruebas metabólicas, proteómicas o genéticas.

Causan infecciones oportunistas generalmente asociadas a cuerpos extraños. Ya se ha señalado que la especie que causa estas infecciones con mayor frecuencia es *Staphylococcus epidermidis* seguida de *S. haemolyticus*.

La mayoría de las infecciones por este grupo de microorganismos son consecuencia de la rotura de la piel o las mucosas por heridas, o más frecuentemente, por la presencia de catéteres endovasculares, drenajes del sistema nervioso central o sondas de diversa localización, incluyendo las urinarias.

Las especies de este grupo producen pocas enzimas extracelulares (incluyendo la coagulasa) por lo que sus infecciones, a diferencia de las causadas por *S. aureus* suelen ser poco inflamatorias e indolentes. La capacidad de adherirse a los materiales plásticos y artificiales y de producir biofilm son factores que favorecen su virulencia.

Entre las infecciones más frecuentes, están las bacteriemias con una prevalencia entre el 20 y el 50% según las series (8,17), generalmente en relación a la presencia de un catéter endovascular. Estas cifras son difíciles de precisar ya que la contaminación de los hemocultivos es frecuente (18) y aunque existen diversos criterios para descartar la contaminación no siempre son de fácil interpretación (17,19,20). Este microorganismo también se halla con frecuencia causando meningitis, no solo en pacientes con derivaciones sino también como manifestación de una bacteriemia oculta.

Estas bacterias se han documentado como agentes causales de endocarditis, peritonitis asociada a diálisis y drenajes, enterocolitis neonatal, infecciones urinarias y otras. Los estafilococos coagulasa negativa se han considerado agentes causales de conjuntivitis neonatal, a pesar de las dificultades que existen para diferenciar entre colonización e infección.

La frecuencia de todas estas infecciones depende de la edad del niño y de los factores predisponentes.

Aunque las infecciones suelen ser de origen endógeno, se ha demostrado que clones de estas especies, en particular de *S epidermidis*, pueden hacerse epidémicos y difundir en

un hospital incluso durante años. Como métodos de tipado se ha utilizado el ribotipado y más frecuentemente el PFGE.

Enterococos

El género *Enterococcus* está formado por cocos grampositivos aerobios y anaerobios facultativos, catalasa negativa que crecen en presencia de concentraciones elevadas de bilis y de cloruro sódico. Incluye varias especies comensales del tubo digestivo humano, siendo *Enterococcus faecalis* y *E. faecium* las más abundantes.

Estas especies se han identificado tradicionalmente por pruebas metabólicas, aunque actualmente también pueden identificarse mediante pruebas proteómicas y genómicas.

Como se ha dicho, su hábitat natural es el tubo digestivo de muy diversos animales incluyendo el hombre (90% de los adultos y más del 50% de los neonatos) siendo *E. faecalis* la especie más abundante. Esta especie también es la más frecuente de este género como causante de infecciones

La patología más relevante, causada por estos microorganismos en los neonatos, es la bacteriemia, pudiendo ocasionar hasta el 10% de los casos de sepsis neonatal. También puede producir meningitis e infecciones asociadas a catéteres, sondas y otros drenajes.

Se ha descrito la posibilidad de que pueda causar brotes epidémicos dentro de las unidades neonatales. Se han propuesto diferentes sistemas de tipado como el PFGE, el MLTS y el “*Multiple Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis*” (MLVA).

Las cepas salvajes de *E. faecium* son más resistente a los antimicrobianos que las de *E. faecalis*. Estas bacterias pueden presentar resistencia adquirida a diversos antibióticos (ver más adelante).

Enterobacterias

La familia *Enterobacteriaceae* (enterobacterias) está formada por bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, oxidasa negativa (excepto *Plesiomonas*), reducen los nitratos y fermentan la glucosa y otros azúcares. Desde el punto de vista nutritivo son poco exigentes, por lo que crecen bien en medios usuales. La familia está formada por más de 50 géneros y numerosas especies. Su hábitat natural es muy amplio y depende de la especie, algunas, como *Escherichia coli*, tienen como principal reservorio al tubo digestivo de los animales, otras son ubiquitarias como *Klebsiella pneumoniae* y determinadas especies como *Serratia rubidea* son telúricas, sin embargo, frecuentemente una misma especie comparte hábitats muy variados aunque su adaptación sea mayor a alguno de ellos.

Desde el punto de vista biológico, las diversas especies tienen una considerable homogeneidad, pero presentan pequeñas diferencias en la temperatura óptima de crecimiento y en la resistencia a los agentes físicos y químicos, en particular las de hábitat telúrico con relación a las de hábitat intestinal. En general son resistentes al citrato sódico y las de hábitat intestinal tienen más resistencia a las sales biliares, a las sales de telurito y de selenio, por lo que estas sustancias se utilizan para la preparación de medios selectivos.

La identificación de las especies puede hacerse mediante pruebas metabólicas, proteómicas o genéticas.

La historia del tipado de las enterobacterias está muy unida al serotipado (antígenos O, K, H), no solo por su valor epidemiológico, sino sobre todo por su relación con la capacidad patógena. Los diferentes patotipos de *E. coli*, de *Shigella* y de *Salmonella* (*Salmonella enterica* serovar Typhi, etc.) se hallan unívocamente relacionados con su serotipo.

De todas maneras el serotipado carece de valor discriminativo en los estudios epidemiológicos, por lo que para este fin se utilizan diversas técnicas genéticas cuya capacidad discriminativa varía según la especie estudiada. Las más utilizadas son el

PFGE, “*Random Amplification of Polymorphic DNA*” o amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD), “*Amplified fragment length polymorphism*” o polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP) y la reacción en cadena de la polimerasa de secuencias de ADN repetidas (REP-PCR).

La familia incluye especies patógenas en los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y otros, en algunas de las cuales se conocen con mayor o menor precisión los factores de virulencia que las facultan para desarrollar su acción patógena.

Sin embargo, la mayoría de las enterobacterias son especies comensales, que ocasionalmente pueden causar infecciones oportunistas; los límites entre cepas comensales y patógenas dentro de una especie no siempre están bien definidos (por ej. *E. coli* uropatógena). Tampoco se conocen con precisión los posibles factores de virulencia (si existen) que permiten a las especies oportunistas causar infección a un huésped susceptible.

Las infecciones oportunistas pueden ser de origen exógeno (provenientes del medio ambiente o de otro paciente a través de las manos); pero muchas de ellas son de origen endógeno. En la mayoría de los de infecciones exógenas se requiere una colonización previa del paciente por la bacteria que causará la infección. *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* son las que causan infecciones con más frecuencia, seguidas por *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *Citrobacter freundii* y *Proteus mirabilis* entre otras, aunque la frecuencia varía según diversos factores (geografía, instituciones, endemicidad, etc.).

Las enterobacterias como oportunistas causan diversas infecciones a los neonatos entre las que destacan la bacteriemia, las infecciones pulmonares, la osteomielitis, artritis, conjuntivitis, diversas infecciones cutáneas y subcutáneas, fascitis, y enterocolitis necrotizante entre otras.

La mayoría de las especies de enterobacterias poseen una elevada capacidad de recombinación (por conjugación y transducción) lo que explica la gran facilidad para adquirir genes de resistencia a los antimicrobianos (ver más adelante).

Bacilos gramnegativos no fermentadores

Bajo el nombre de bacilos gramnegativos no fermentadores (BGN-NF) se denomina a un gran número de familias, géneros y especies de bacilos y cocobacilos gramnegativos que son aerobios estrictos, oxidasa variable según la especie, en su gran mayoría nutritivamente no exigentes y que poseen un hábitat telúrico.

Este gran grupo de BGN-NF, aparte de las propiedades que se acaba de señalar y que les definen como conjunto, poseen muchos caracteres diferentes entre sí, desde la existencia de especies patógenas primarias para las plantas y los animales, hasta la posesión de diferentes características biológicas y de hábitat.

Un reducido número de géneros, *Brucella*, *Francisella*, *Bordetella* y *Moraxella* son particulares por su capacidad patógena primaria para algunos animales y el hombre, en los que tienen su hábitat natural, y por ser nutritivamente exigentes. Estos géneros los excluimos de las consideraciones que siguen ya que no causan infecciones neonatales oportunistas. En el género *Burkholderia*, que es telúrico y no exigente, existen dos especies patógenas para el hombre y los animales que son *B. mallei* y *B. pseudomallei* (causantes del muermo y la melioidosis respectivamente)

El principal interés de estas bacterias en medicina viene dado por la capacidad de algunas de causar infecciones oportunistas al hombre. Cabe destacar que son muy diversas las especies que pueden causar estos procesos, dependiendo del lugar donde se producen, el momento, el ambiente epidémico el grado de colonización de los pacientes y de la patología de base o el factor predisponente correspondiente. Las principales especies de este grupo de BGN-NF involucradas en estos procesos oportunistas se encuentran en los géneros *Pseudomonas* (*P. aeruginosa* y otras), *Acinetobacter* (*A. baumannii* y otras) *Stenotrophomonas* (*S. maltophilia* y otras) y *Burkholderia* (*B. cepacia* y otras); aunque, como se ha señalado, estas infecciones oportunistas pueden estar causadas por especies de muchos otros géneros como *Shewanella*, *Chryseobacterium*, *Sphingomonas*, *Elizabethkingia*, etc.

Pseudomonas aeruginosa: Dentro del género *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* es la especie que causa infecciones con más frecuencia y constituye el paradigma de los BGN-NF como oportunistas. Las bacterias gramnegativas en general causan el 25% de las bacteriemias, pero son responsables de aproximadamente el 70% de las formas fulminantes dentro de las cuales el 42% se debe a *P. aeruginosa* (21). Es particularmente ilustrativo saber que los bacilos gramnegativos en conjunto, causan el 56% de la mortalidad en tanto que los estafilococos coagulasa negativa son responsables de menos del 1% (17,21,22). Los bacilos gramnegativos son también los principales causantes de neumonía (sobre todo en niños prematuros extremos) y de las infecciones asociadas a dispositivos médicos (tubo endotraqueal y sondas).

Su hábitat natural es muy amplio y abarca las aguas de muy diversas localizaciones (ríos, piscinas, aguas minerales, termales, etc.), los vegetales y diversos puntos de los servicios hospitalarios (superficies de poyatas, soluciones antisépticas, aguas de respiradores, catéteres, etc.). Son capaces de colonizar el tubo digestivo de las personas en proporciones muy variables siendo más frecuentes en personas hospitalizadas en las que se aportan cifras del 18 al 60%, dependiendo del ambiente epidémico del centro. En personas no relacionadas con la sanidad este porcentaje oscila entre el 1 y el 4%.

Posee las características comunes a los BGN-NF señaladas más arriba. Desde el punto de vista nutritivo es poco exigente, por lo que crece bien en medios usuales o selectivos; es oxidasa positiva y produce un pigmento azul verdoso, la pirocianina, que es específico de esta especie y que confiere un color azul verdoso a las colonias que facilita su detección. También es propio de las colonias de esta especie desprender un olor dulzón característico.

Los medios selectivos más utilizados se formulan con combinaciones de cetrimida, fenantrolina o ácido nalidíxico. Se identifica mediante pruebas bioquímicas, o bien por técnicas proteómicas o genómicas.

Se le han atribuido diferentes factores de virulencia -siempre sin olvidar que se trata de una bacteria oportunista- y el papel preciso de los mismos en el proceso patológico es difícil de señalar. Entre estos factores se postulan las fimbrias que actúan como

adhesinas y facilitan la formación de biofilm, los flagelos, exopolisacáridos como el alginato que facilita la adherencia y dificulta la fagocitosis, exoenzimas como la elastasa, diversas proteasas, fosfolipasas y la neuraminidasa, quelantes de hierro como la pioverdina y diversas exotoxinas como la exotoxina A.

Causan un número amplio y variado de infecciones oportunistas, tanto en medio ambulatorio como en los hospitales incluyendo las unidades de cuidados intensivos. En este contexto causan neumonía, infecciones urinarias, infecciones de heridas quirúrgicas, bacteriemia e infecciones del sistema nervioso central, entre otros procesos. En pacientes específicos como los quemados, los afectados de fibrosis quística (FQ) y otros producen infecciones características. Las colonias aisladas de pacientes con FQ tienen aspecto mucoso

Estas bacterias pueden producir epidemias intrahospitalarias. Existen diferentes sistemas fenotípicos de tipado, como el serotipado, fagotipado, bacteriocintipado (piocinotipos) o el biotipado; pero actualmente se utilizan técnicas genéticas como el RAPD y en particular el PFGE.

El resto de especies de bacilos gramnegativos no fermentadores poseen muchas de las características señaladas para *Pseudomonas aeruginosa*, siendo también agentes de infecciones nosocomiales. Muchos de ellos causan con frecuencia brotes epidémicos o se instauran endémicamente en una sala de un hospital, una unidad de cuidados intensivos o en una residencia geriátrica. Generalmente las cepas aisladas en los hospitales son multirresistentes (ver más adelante).

Hongos

Los hongos pueden causar infecciones muy graves en pacientes inmunodeprimidos. En esos procesos participan tanto hongos levaduriformes como filamentosos.

En las infecciones de los neonatos el hongo detectado con más frecuencia es *Candida albicans*. Se trata de una levadura de tamaño medio (4-6µm), aerobia, que crece bien en medios usuales incluyendo el medio de Sabouraud. La introducción de medios cromogénicos para levaduras permite la identificación presuntiva rápida de las especies

de *Candida* basándose en el color de las colonias, lo que posee un gran interés, ya que algunas son naturalmente resistentes a los azoles, que son los antifúngicos de primera elección. La identificación metabólica se hace mediante auxonograma y actualmente también se identifican por técnicas de espectrometría de masas.

Virus

No son agentes causales frecuentes de estas infecciones, siendo su incidencia probablemente inferior al 1% (23). Sin embargo, en ocasiones virus como el respiratorio sincitial, los de la gripe y otros virus respiratorios, así como rotavirus y enterovirus causan brotes que pueden alcanzar tasas de ataque del 33% (24).

Tabla 3: Características de los principales BGN-NF.

Microorganismo	Morfología Cultivo ¹	Tª crecimiento	Ox/mov ²	Marcador ³	Hábitat	Características
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	BGN finos Colonias pigmentadas ⁴	25-42°C	+ / +	PFGE RAPD MLST	MA ⁵ Portadores ⁶	Piocianina ⁴ Olor característico Medio selectivo ⁷ Cepas mucoides
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Diplobacilos Col. lisas	37-44°C	Neg/neg	PFGE	MA ⁵ Portadores ⁸	Oxida la glucosa
<i>Burkholderia cepacea complex</i>	Bacilos finos Col. lisas		+debil/+	PFGE MLST	MA ⁵	Medio selectivo ⁸ Pigmento ⁹
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Bacilos pequeños finos Col. lisas	30-37°C	Neg/+	PFGE	MA ⁵	Medio selectivo ¹⁰

¹Características de las colonias. ²Oxidasa /movilidad. ³Marcadores epidemiológicos. ⁴ Produce el pigmento piocianina que confiere a las colonias color azul verdoso. ⁵MA: medio ambiente. Incluye las aguas, tierras húmedas y vegetales y flores. Pueden colonizar las superficies del suelo y de las poyatas en hospitales, así como grifos y distintos instrumentos. ⁶ Entre el 1y el 4% de la población son portadores sanos. ⁷ Hay varios; el agar cetrimida con ácido nalidíxico es uno de ellos. ⁸ Puede colonizar la piel de pacientes hospitalizados. Hay un medio selectivo con polimixina y bacitracina. ⁹ El 10% de las cepas produce un pigmento amarillo. ¹⁰ Agar vancomicina con imipenem.

PRINCIPALES INFECCIONES POSTNATALES

Las principales infecciones postnatales adquiridas en el hospital son la bacteriemia/fungemia, las infecciones respiratorias en pacientes intubados, las infecciones urinarias, las infecciones cutáneas y subcutáneas, la osteomielitis metastásica, la artritis séptica, la meningitis, y las conjuntivitis.

Sepsis. Bacteriemia y fungemia.

Tradicionalmente se han usado el término de sepsis como sinónimo de bacteriemia y/o fungemia, sin embargo, se denomina sepsis al cuadro clínico caracterizado por la presencia de un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS; en inglés SIRS) de etiología infecciosa (infección documentada o sospechada) (25–27).

El diagnóstico de SRIS requiere la presencia de dos o más de los siguientes síntomas: fiebre o hipotermia, taquicardia, taquipnea, $pCO_2 < 32$ mm. Hg, leucocitosis o leucopenia (26,28,29).

La bacteriemia y/o la fungemia se presentan en la mayoría de las ocasiones con un cuadro clínico de sepsis. El hecho de que, en los neonatos, la sepsis se manifieste de forma inespecífica, dificultando enormemente determinar la localización de la infección y o su foco de origen, hace que comúnmente se usen de forma indistinta los términos bacteriemia/fungemia y sepsis (4).

Los factores de riesgo que determinan su adquisición están muy relacionados con el momento de aparición de la bacteriemia/fungemia/sepsis e incluyen factores maternos, del huésped y del microorganismo causante, sobre todo en cuanto a la virulencia de este último. El principal factor de riesgo de la bacteriemia de adquisición postnatal es la cateterización central que multiplica el riesgo, el cual resulta particularmente elevado en los catéteres de nutrición parenteral (8,9,30).

Otros factores asociados a la bacteriemia son la prematuridad, la ruptura de las barreras naturales (piel y mucosas), los procedimientos invasivos como la intubación endotraqueal, la enterocolitis necrotizante, la administración prolongada de

antimicrobianos y el uso de fármacos inhibidores de la bomba de protones o antagonistas de los receptores H2 (31).

Como se ha señalado anteriormente, las manifestaciones clínicas son inicialmente inespecíficas, habitualmente las propias del SIRS, y generalmente no orientan hacia el foco de origen (32).

La sepsis de adquisición postnatal, suele manifestarse después del séptimo día del nacimiento. Cuando está causada por *S. epidermidis* (20-50%) suele estar relacionadas con la implantación de catéteres endovasculares (8).

Entre los otros agentes etiológicos responsables (Tabla 1) destacan los bacilos gramnegativos, sobre todo las enterobacterias (*E. coli*, especies de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Serratia*) y *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos gramnegativos aerobios. En conjunto los bacilos gramnegativos son los responsables de aproximadamente un tercio de las sepsis, pero cabe resaltar que son la causa de más de la mitad de las muertes por sepsis en este grupo de población (8).

El riesgo de sepsis de adquisición postnatal incrementa a medida que se prolonga la estancia en el hospital. Se han publicado cifras variables de prevalencia en estos niños, que oscilan entre el 7 % y el 43% en relación inversa a la edad y el peso. Así se estima que mientras el 0,1% de los niños a término padecerán una infección en el periodo neonatal, esta cifra aumenta al 20% en los niños de muy bajo peso al nacimiento.

Series como la publicada por la red SEN1500, que estudia niños de < 1500g ingresados en 48 UCIN, aporta, en una población de 8836 neonatos estudiados entre los años 2002-05, una prevalencia de sepsis tardía del 29.4% (33). En otros grupos el porcentaje de meningitis/sepsis tardía ha sido del 25% (31).

Hay que resaltar que los niños con muy bajo peso que padecen sepsis presentan una mortalidad tres veces superior a aquellos que no se ven afectados por este tipo de infecciones (17,34,35).

Cuando se aísa por hemocultivo un estafilococo coagulasa negativa debe descartarse una posible contaminación accidental y si el paciente está cateterizado ha de determinarse si el foco de sepsis es el catéter (36–39)

La técnica del hemocultivo en pediatría debe adaptarse a los procedimientos estándar para evitar la obtención de falsos negativos (40–43)

El hemocultivo en los niños con un cuadro de sepsis es una práctica inexcusable, dada la inespecificidad de los síntomas (4).

Meningitis

La meningitis neonatal se caracteriza por la presencia de signos y síntomas de infección sistémica con marcadores inflamatorios compatibles. La sintomatología clínica de la meningitis muchas veces se superpone a la de una bacteriemia (sepsis) coexistente. Generalmente hay alteraciones en el líquido cefalorraquídeo sugerentes de inflamación meníngea (proteínas, glucosa, leucocitos/linfocitos).

La incidencia de meningitis bacteriana es mayor en el primer mes de vida que en otros grupos de edad y complica hasta un tercio de los casos de sepsis bacteriana en esta población (44). No está aclarado por qué en el curso de una bacteriemia unos recién nacidos desarrollan meningitis y otros no. En alrededor de un tercio de los pacientes el hemocultivo es negativo y el cultivo del LCR positivo (45–47).

Se consideran factores de riesgo, además de los propios de infección nosocomial, la presencia de anomalías congénitas (meningocele, mielomeningocele, etc.) que favorecen la invasión directa de las bacterias al espacio subaracnoideo y las técnicas neuroquirúrgicas (punción ventricular, colocación de reservorio, colocación de drenaje ventrículo-peritoneal, intervención quirúrgica intracraneal, etc.) que favorezcan el implante directo de bacterias en el sistema nervioso central (48).

En la experiencia del Grupo Castrillo (49), se constataron 67 casos sobre un total de 33.703 ingresos (0,20%) en 28 UCIN españolas durante los años 1997 y 98, siendo la incidencia mayor, como cabe esperar, en los neonatos <1500 g. que en los de peso

superior. La mortalidad atribuible a esta patología está en torno al 10% en países desarrollados y entre el 40-60% de los niños afectados en países subdesarrollados (50).

Neumonía en el neonato

La neumonía es una causa de mortalidad significativa durante el periodo neonatal, en particular en niños muy prematuros. En algunos casos se presenta en el contexto de una sepsis grave asociada a meningitis y bacteriemia.

Considerando los niños diagnosticados durante su estancia en la nursery la tasa de ataque es del 0,4 por 100 niños. Estas neumonías pueden ser consecuencia de una infección congénita o adquirida durante el parto o en el periodo posterior. Como consecuencia de ello la etiología es extraordinariamente variable; aun haciendo únicamente referencia a las adquiridas después del parto, estas pueden estar causadas por virus, bacterias o protozoos (pneumocystis).

Entre los principales agentes bacterianos causales de infección pulmonar en la población neonatal general destacan *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* junto con enterobacterias como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* (51,52) y en los prematuros extremos (< 28 s) predominan *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *P. aeruginosa* (53).

Hay que destacar que la neumonía asociada a la ventilación mecánica (NAV) es la segunda causa más frecuente de infección en el neonato.

En la NAV, hay que tener en cuenta la posibilidad de confusión diagnóstica con otros procesos pulmonares propios de estos pacientes como el síndrome de distrés respiratorio y/o la displasia broncopulmonar y la existencia de flora colonizante en las vías respiratorias que puede aportar información equívoca sobre el diagnóstico y la etiología (54); todo ello dificulta la posibilidad de consensuar una definición única de este proceso y la posibilidad de comparar resultados entre diferentes centros (55).

En la etiopatogenia de la NAV interviene la colonización bacteriana de la faringe y de las vías respiratorias altas que facilita la progresión microbiana hacia el pulmón que se ve

favorecida por el déficit o ausencia de los mecanismos de defensa fisiológicos incluido el reflejo de la tos y la inmadurez del sistema inmune (56). Otros factores de riesgo que contribuyen a esta patología han sido señalados e identificados por Tan y colaboradores (57) y son la duración de la estancia en UCIN, la ventilación mecánica, la intubación traqueal (aumento del riesgo entre 3 y 21 veces), la reintubación, la alimentación enteral, las transfusiones, la nutrición parenteral, el bajo peso al nacer (el NNIS refiere que el 43 % de los neonatos con un peso al nacimiento <1000 g requieren intubación frente a un 16% de los neonatos con un peso entre 1000 y 1499 g (55), la prematuridad y la existencia de displasia broncopulmonar. La frecuencia semanal o bisemanal del recambio de circuitos del respirador no se considera factor de riesgo en este grupo de pacientes (58).

Obviamente, el principal factor de riesgo es la ventilación mecánica que se aplica al 54% de los niños ingresados en una UCIN según el estudio de prevalencia realizado por Ballcels y colaboradores en 31 UCIs pediátricas españolas en el año 2002 (59). En contra de lo que cabe pensar, esta no altera sustancialmente el tipo de flora hallado en las vías respiratorias sino su diversidad y la proporción de los componentes de la misma que varía en dependencia de los días que el paciente permanece intubado. Este hecho es especialmente importante en especies de *Klebsiella* y *Acinetobacter* (60) cuyo hallazgo en elevadas proporciones en el esputo podría ser considerado indicador de la existencia de NAV.

Entre los escasos datos publicados de NAV en este grupo de edad destaca el estudio de cohortes realizado por Apisarnthanarak *et al.* entre los años 2000 y 2001(53) que refieren una prevalencia de NAV del 28% en prematuros de muy bajo peso lo que representó 6,5 por cada 1000 días de aplicación del ventilador. El 94% de los casos estaban causados por bacilos gramnegativos y en el 58% la etiología era polimicrobiana. En otras series que abarcan neonatos de cualquier edad ingresados en una UCIN la prevalencia oscila entre un 7 y un 24% (61). Las tasas generales informadas por National Healthcare Safety Network (Centers for Disease Control and Prevention, EEUU) atendiendo a los datos de 173 UCIN descienden del 1,6 por 1000 días de aplicación del ventilador en el año 2007 a 0,6 episodios en el año 2012 (62).

Infección urinaria

Se define como infección del tracto urinario (ITU) a la presencia de microorganismos, más frecuentemente bacterias, en el aparato urinario asociados a signos o síntomas de infección. El diagnóstico definitivo se basa en la existencia de un cultivo de orina cuantitativo superior a 10^4 colonias por ml a partir de una muestra de orina recogida correctamente (63). Generalmente se asocia piuria y un cuadro clínico sugerente de ITU. Cuando la muestra de orina se toma por punción suprapúbica cualquier número de bacterias se considera significativo (64–66). Los criterios para definir la infección urinaria son muy debatidos tanto para los neonatos como en los niños y adultos (67).

Como se ha señalado, la mayoría de las UTI son de etiología bacteriana, pero estos agentes han variado en el tiempo debido al amplio uso de antibióticos y al cambio de la epidemiología en las salas y unidades de hospitalización. Entre los años 1969-78 el 75 % de las ITU estaban causadas por *E. coli*, en tanto que en el periodo 1991- 2007 este porcentaje correspondía al 25% de los casos y se aislaba *Klebsiella* en el 25,5 % y *Enterobacter* el 14 % de los pacientes; estas dos últimas especies en el periodo anterior causaban el 13,5 y el 1,5% respectivamente.

Las anomalías del tracto urinario como factor predisponente aparecen en el 35-50% de los casos, siendo las más representativas la fimosis, la hidronefrosis y el reflujo vesicoureteral (63).

Las infecciones por hongos, en particular candida, se dan generalmente como infección nosocomial en prematuros, niños sondados, con alteraciones congénitas o tratados con antibióticos durante largo tiempo. Las infecciones víricas corresponden en su mayoría a la eliminación e infección local por virus adquiridos durante el embarazo (68).

A diferencia de lo que ocurre en los adultos ingresados en unidades de cuidados intensivos en los que el sondaje es el principal factor de riesgo de ITU, en los neonatos, al cateterizarse estos raramente, el mecanismo fundamental de adquisición es la diseminación por vía hematológica.

La clínica de las ITU puede ser muy variada. Desde formas silentes o un síndrome febril sin foco aparente hasta un cuadro de sepsis asociado a bacteriemia e incluso a meningitis. Puede constatarse de modo poco específico fiebre, vómitos, rechazo del alimento, ictericia -asociada hasta en un 8% a la ITU en neonatos- (69) y estancamiento ponderal, pero también dificultad respiratoria, apnea, bradicardia e hipoglucemia. Esto hace que la infección urinaria se tenga presente en toda sospecha de sepsis neonatal tardía y se recomiende realizar un cultivo de orina en los paciente sépticos (70–72).

No hay datos prospectivos de prevalencia de infección urinaria. Diversos estudios efectuados en poblaciones no comparables entre sí sitúan la prevalencia de la ITU de aparición tardía entre el 4% y el 20-25% en los RN pretérminos (67,73–75). Estos trabajos refieren la aparición de los síntomas en torno al día 16-17 de vida. A nivel nacional destaca la serie de Fernández Díez del Hospital de Cabueñes en Gijón (76), que tras estudiar las infecciones urinarias de su unidad de neonatos durante 11 años, aporta una tasa de 5 casos por 1000 nacidos vivos que sube a 13 cuando únicamente se consideran los niños prematuros y una edad media de inicio de los síntomas de 15 días.

Peritonitis

Las peritonitis neonatales responden a diversas causas. Las peritonitis neonatales, en ausencia de obstrucción intestinal, suelen ser secundarias a un cuadro de enterocolitis necrosante (ECN) o a la presencia de una perforación intestinal espontánea (PIE) (77). Otras causas posibles pero menos frecuentes son la ruptura de un onfalocele, las bacteriemias en las que se produce localización peritoneal y la infección de una herida quirúrgica de la pared abdominal. También pueden ser causa de peritonitis la perforación gástrica y duodenal, raras en el recién nacido y generalmente iatrogénicas causadas por altas dosis de esteroides, la intubación nasogástrica o la sobredistensión gástrica con ventilación de alta presión en niños con una fístula traqueoesofágica. Algunas peritonitis aparecen como formas idiopáticas primarias (12%) aunque cuando se estudian con cuidado suelen ser secundarias a bacteriemia u onfalitis (77,78).

Están causadas mayoritariamente por bacterias gramnegativas como enterobacterias y pseudomonas, así como por estafilococos, enterococos y candidas (79). También causan

estas infecciones las bacterias anaerobias como bacteroides porfiromonas, eubacterium y otras. Las peritonitis secundarias a perforación o infecciones de contigüidad son frecuentemente polimicrobianas pero su etiología esta en relación a la causa; las primarias son con más frecuencia monomicrobianas y causadas por grampositivos.

El cuadro clínico puede variar, pero el shock y la distensión abdominal suelen estar presentes en la peritonitis bacteriana neonatal (80-85% de los casos); los vómitos, la hipotermia o la fiebre y el distrés respiratorio también son frecuentes. La perforación intestinal espontánea generalmente se acompaña de cambios inflamatorios y tóxicos de menor gravedad que en la enterocolitis necrotizante y no suele aparecer pneumatosis intestinal (79).

Enterocolitis necrotizante

La enterocolitis necrosante es la patología digestiva adquirida más frecuente y grave en el período neonatal (80). Se define como la inflamación de la pared intestinal con o sin necrosis, en ausencia de obstrucción mecánica. Puede presentar una extensión y profundidad variable, aunque generalmente afecta al íleon terminal y al ciego (77). Este proceso causa perforación intestinal y peritonitis en un tercio de los casos aunque aunque algunos autores defienden que ambas entidades, ECN y PIE, representan diferentes manifestaciones del mismo proceso patogénico (78).

La patogenia de esta enfermedad no ha sido establecida, pero se supone que alguna noxa de carácter general que afecta al tubo digestivo, como la hipotensión, la asfixia perinatal, un vasoespasmo intestinal (con o sin trombosis) o una policitemia, entre muchos otros factores que han sido sugeridos, producirían una isquemia intestinal que lesionaría la mucosa. Una característica de este proceso es la formación de una neumatosis asociada, probablemente secundaria a la penetración de bacterias a la pared intestinal a través de las lesiones iniciales de la mucosa. Como se acaba de señalar, a pesar de estas hipótesis, la causa y el proceso patológico no ha podido ser establecido inequívocamente.

Es interesante destacar que ocasionalmente este proceso se presenta en las nurseries o UCIN de forma epidémica y ello ha potenciado la idea de que su etiología depende de un agente transmisible. En diversos estudios se ha encontrado en la pared intestinal de estos pacientes un solo germen, lo que apoyaría esta hipótesis, salvo por el hecho de que el microorganismo detectado ha sido diferente de uno a otro estudio. La semejanza con la enteritis necrotizante causada por *Clostridium perfringens* y otros clostridios ha dado pie a sugerir que una especie de este género podría ser la causante. En el 75 % de los casos se aíslan enterobacterias siendo mucho menos frecuente el aislamiento de *Candida* sp. y estafilococos coagulasa negativa (81).

La clínica es muy variable dependiendo del grado de afectación y puede oscilar desde leves alteraciones gastrointestinales a bacteriemia con peritonitis y shock séptico. Se han establecido criterios clínicos específicos (criterios de Bell) correspondientes a los diversos periodos evolutivos de la enfermedad (82,83).

Constituye, junto con la prematuridad y el distrés respiratorio, una de las causas más importantes de estancias hospitalarias muy prolongadas. Su incidencia global se estima entre el 0,5 y el 5‰ nacidos vivos, siendo de alrededor del 7% en niños con muy bajo peso al nacer según datos publicados por la red SEN1500 y otros estudios (33,77,80). La incidencia varía mucho según el centro, la raza, el sexo y la prematuridad siendo muy poco frecuente en los niños nacidos a término (solo el 5-10% de los casos).

Otras infecciones

Otras infecciones nosocomiales tardías que pueden hallarse en los neonatos son las conjuntivitis y las infecciones cutáneas y subcutáneas.

Conjuntivitis. La conjuntivitis es más frecuente en niños prematuros debido, entre otros factores, a que estos pasan mucho tiempo con los ojos cerrados o cubiertos por un vendaje (hecho que favorece la proliferación bacteriana) y a los exámenes oculares motivados por la retinopatía del prematuro.

El diagnóstico de conjuntivitis en los neonatos se establece cuando existe un evidente exudado purulento en el ojo; este criterio se reafirma cuando crece en el cultivo del

exudado o de la conjuntiva un microorganismo que puede ser un potencial agente causal (ej. *S. aureus*, *P. aeruginosa* (84)) ya que estos niños no pueden aplicarse los criterios diagnósticos establecidos para los adultos (85). De todas maneras, los cultivos de exudado conjuntival no son de mucha utilidad en el diagnóstico de conjuntivitis dada la elevada frecuencia de colonización de la conjuntiva en el neonato. Raskind y colaboradores (86), que analizan esta colonización en niños ingresados en una UCIN detectan que al menos el 58% de los pacientes tienen un cultivo conjuntival positivo y que el 75% de los aislamientos corresponden a EPCN cuyo valor como agente causal puede ser discutido; sin embargo detectan que los niños asintomáticos presentan cultivo negativo con más frecuencia que aquellos con edema, eritema o exudado conjuntival. Así los principales agentes causales son bacterias como estafilococos coagulasa negativa, *S. aureus*, *Klebsiella* sp., *P. aeruginosa*, *S. marcescens* y *E. coli*, además de hongos y virus como el adenovirus.

Haas y colaboradores (87) refieren una prevalencia de conjuntivitis del 5% en una UCIN de Nueva York. Diversos estudios (10) muestran que las conjuntivitis ocupan el segundo lugar en frecuencia por detrás de las bacteriemias y que la media de tiempo que tarda en aparecer desde el ingreso es de 16 días (88).

Infecciones de piel y tejidos blandos. La mayoría están causadas por *S. aureus* (24). El espectro clínico es amplio y abarca el impétigo, la celulitis, los abscesos y enfermedades relacionadas con toxinas como el síndrome de la piel escaldada estafilocócico o el síndrome del shock tóxico. *P. aeruginosa* puede causar ectima gangrenosa en el niño prematuro y las enterobacterias, púrpura fulminans. Las candidas pueden producir infecciones cutáneas de aspecto eritematoso en zonas húmedas y de roce.

Se debe tener presente la posibilidad de que algunos hongos como los zigomicetos pueden causar lesiones cutáneas necrotizantes.

Algunos virus como el virus herpes simple y los enterovirus, producen lesiones vesiculosas.

BACTERIAS RESISTENTES

La resistencia de las bacterias frente a un antimicrobiano puede ser natural (resistencia intrínseca) o adquirida.

La resistencia adquirida puede deberse a la mutación de un gen que codifica un elemento (diana) sobre el que actúa el antibiótico. La resistencia se produce cuando la mutación comporta un cambio estructural de esta diana que disminuye o anula su afinidad por un antimicrobiano en concreto.

La resistencia también puede producirse por adquisición de un gen exógeno por diferentes mecanismos de recombinación genética.

La adquisición de un gen exógeno comporta resistencia cuando este codifica actividades que bloquean la penetración del antibiótico, lo inactivan o lo expulsan. Los genes de resistencia más importantes son los que codifican enzimas que inactivan los antibióticos y los sistemas de expulsión.

La adquisición por una bacteria de este material genético exógeno, portador de genes de resistencia, se puede hacer por diferentes mecanismos de recombinación como son la transformación, que permite a una bacteria incorporar DNA libre en el medio (generalmente procedente del cromosoma de una bacteria lisada); la conjugación, mediante la que se transfieren de una bacteria a otra piezas genéticas como plásmidos, transposones, secuencias de inserción o integrones que portan genes de resistencia (89–91); o por transducción que consiste en la transferencia de genes de resistencia a través de bacteriófagos (92).

La difusión de una bacteria resistente en el medio ambiente, entre los animales y los humanos depende, entre otras razones, de su selección por los antibióticos.

Una bacteria resistente difundirá más rápidamente si es capaz de transferir sus genes de resistencia a otras bacterias, ya que se amplifica el número de bacterias resistentes que seleccionan los antibióticos

La facilidad de difusión de una bacteria y la facilidad para transferir sus genes de resistencia a otras bacterias de la propia especie o de otras especies depende de diversos factores y sin duda muchos de ellos son aún desconocidos. No hay duda de que el amplio uso de los antimicrobianos en fiticultura, veterinaria y medicina ha sido el elemento decisivo que ha facilitado la selección y posterior difusión de las bacterias resistentes.

Aunque la aparición de las resistencia ha sido progresiva desde la introducción de los antibióticos (93) (ver Figura 1), algunos investigadores incluyen a las bacterias multirresistentes en el grupo de patógenos emergentes.

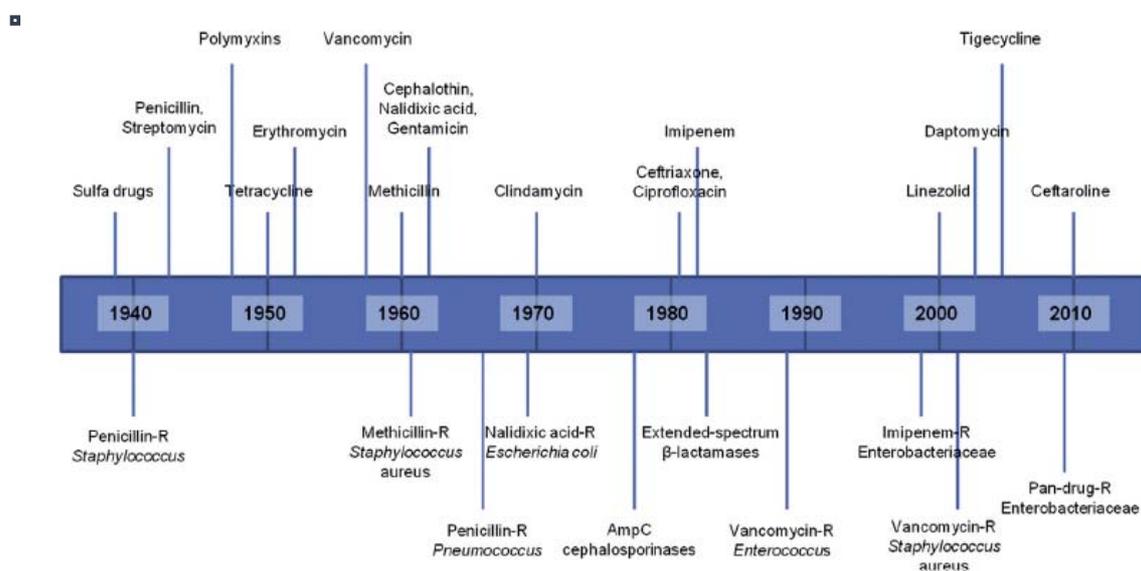


Figura 1: Tiempo entre la introducción de un antimicrobiano y el desarrollo de resistencia bacteriana.

CONCEPTO DE MULTIRRESITENCIA

Hasta la publicación del trabajo de Magiorakos *et al* en el año 2012 (94) no existía una definición estandarizada de multirresistencia. Esta publicación representa la opinión de un grupo de expertos del European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) y el Centers for Disease Control and Prevention americano (CDC). Definen la multirresistencia bacteriana como la resistencia a dos o más familias de antimicrobianos, que acarrea la imposibilidad de tratar una infección ocasionada por la BMR con los antibióticos de primera elección disponibles frente a ella. La nomenclatura

usada para las micobacterias se ha extendido al resto de especies, así “multirresistencia” (MDR) propiamente dicha es cuando existe resistencia adquirida al menos a un agente en tres o más categorías; una cepa es “extremadamente resistente” o con “resistencia extendida” (XDR) cuando existe resistencia adquirida a al menos un fármaco en todas menos una o dos familias o categorías antimicrobianas y por último, se considera cepa “panresistente” cuando es resistente a todos los agentes en todas las categorías (ver categorías en el apartado de definiciones de material y métodos).

Otra forma de catalogar la multirresistencia en los bacilos gramnegativos sería prestando atención sólo a las cuatro familias principales de antimicrobianos bactericidas, definiendo como multirresistentes a aquellas cepas resistentes a 3 o 4 de estas en dependencia del tipo de microorganismo (95). Así en las enterobacterias consideraríamos:

1. Penicilinas: Piperacilina-tazobactam
2. Cefalosporinas: Cefotaxima
3. Carbapenémicos: Imipenem, meropenem y/o ertapenem
4. Fluoroquinolonas: Ciprofloxacino

Esta definición excluye a los antimicrobianos con actividad bacteriostática y a los aminoglucósidos puesto que estos se usan fundamentalmente en tratamientos combinados. Además podría dejar fuera a las enterobacterias con una betalactamasa de espectro extendido (BLEE) puesto que prioriza las opciones terapéuticas de primera línea dejando en un segundo plano el mecanismo molecular de resistencia. Otro problema que plantea es que en los neonatos generalmente no se usan las fluoroquinolonas por lo que realmente se podría hablar de tres categorías en lugar de cuatro.

La trascendencia de las infecciones causadas por estas bacterias es diversa ya que la multirresistencia puede obligar a utilizar antimicrobianos con una mayor toxicidad o menor eficacia lo que incrementa la mortalidad así como el tiempo de hospitalización, y por tanto el coste derivado de la estancia (96). Según esto, bacterias que únicamente son resistentes a antibióticos de la misma familia, en particular los betalactámicos, pueden presentar problemas de tratamiento y deberían considerarse multirresistentes.

DIFUSION DE LAS BACTERIAS RESISTENTES

En los últimos años se ha observado que las bacterias resistentes, incluyendo las multirresistentes, difunden no solo en el contexto de un hospital, sino ampliamente en todo un país, continente o incluso a nivel mundial. Las causas de la amplia difusión de las cepas resistentes no se conocen aunque se sabe que algunas podrían seleccionarse en animales a los que se administra antibióticos para el engorde o el tratamiento. El comercio internacional de piensos contaminados por bacterias resistentes puede facilitar su difusión en el medio agropecuario, alcanzando posteriormente al hombre. También podría estar involucrada la utilización de antibióticos en agricultura y otros procedimientos industriales.

Obviamente su difusión entre la población humana, en particular en hospitales y centros socio-sanitarios, tiene otra dinámica, aunque no necesariamente desligada de aquella. Para evitar la difusión de estas bacterias en los hospitales y otras instituciones sanitarias y la consecuente aparición de brotes de infecciones nosocomiales, hay que extremar las normas de aislamiento de contacto de los pacientes. Además, muchos pacientes, tras haber adquirido la bacteria resistente, ayudados por la presión selectiva de los antibióticos y por otras razones poco conocidas de adaptación estable del microorganismo al tubo digestivo o a la piel, permanecen como portadores de estas bacterias durante períodos de tiempo prolongados, actuando como reservorio. Asimismo, el personal sanitario puede estar colonizado por bacterias resistentes. Este estado de portador puede constituir un grave problema para los pacientes de áreas de riesgo como las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales, entre otras

MULTIRRESISTENCIA EN LAS UCIS NEONATALES

A modo de resumen, entre las bacterias multirresistentes causantes de infecciones en los neonatos destacan los estafilococos resistentes a la meticilina, en la mayoría de los cuales se asocia la resistencia a otras familias de antimicrobianos, los enterococos resistentes a la vancomicina y los diferentes perfiles de resistencia de los bacilos gramnegativos a los antibióticos betalactámicos y, con frecuencia, simultáneamente a otras familias de antimicrobianos (ver tabla 4).

Tabla 4: Microorganismos multirresistentes de trascendencia clínica en la UCIN. Modificado de Prats, G. Microbiología Clínica (96).

Microorganismo	Antibiótico	Mecanismo y denominación	Observaciones
<i>Staphylococcus aureus</i>	Meticilina	Adquisición de la PBP2a (MRSA)	R a todos los BL. R asociada a otras familias
	Vancomicina	Adquisición del gen <i>vanA</i> (VRSA)	Solo descrito en cepas de MRSA
		No se conoce con exactitud el mecanismo (VISA)	Solo descrito en cepas de MRSA
<i>Enterococcus faecium</i>	Ampicilina	Mutación o hiperproducción de PBP5	Presente en la mayoría de cepas de <i>E. faecium</i>
	Vancomicina	Adquisición de genes <i>van</i> (VRE)	Corresistencia con AMP y FQ. Complejo clonal CC17
	Aminoglucósidos	Alto nivel de R. Mut. ribosomal o mec. enzimát.	Pierde la actividad sinérgica bactericida AMP o VAN.
Enterobacterias (<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> ...)	PEN, C3G, C4G, AZT	Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) Hiperproducción AmpC cromosómica (cAmpC) Adquisición de AmpC plasmídica (pAmpC)	R asociada a otras familias (FQ, AMG, SXT) R a betalactámicos excepto C4G y carbapenémicos Patrón fenotípico similar a la hiperprod. cromosómica
	Carbapenémicos	Disminución de la permeabilidad Adquisición de carbapenemasas	R a todos los betalactámicos R asociada a otras familias (FQ, AMG, SXT)
BGN no fermentadores (<i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>)	C3G, C4G, AZT, CBP	Hiperproducción de AmpC cromosómica Disminución de la permeabilidad Expulsión activa BLEE, Carbapenemasas	Acumulación de múltiples mecanismos de resistencia R asociada a otras familias de antibióticos
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Mayoría de familias	Resistencia intrínseca salvo a SXT, FQ y algún BL	Fenotipo de MR inherente a su especie

BLEE: betalactamasa de espectro extendido. cAmpC: betalactamasa AmpC cromosómica. MRSA: *S. aureus* resistente a meticilina. pAmpC: betalactamasa. AmpC plasmídica. PBP: proteínas fijadoras de penicilina. VISA: *S. aureus* con resistencia intermedia a vancomicina. VRE: enterococo resistente a vancomicina. VRSA: *S. aureus* resistente a vancomicina. R: resistencia. MR: multirresistencia. AMP: ampicilina, AMG: aminoglucósidos. AZT: aztreonam (monobactam), BL: betalactámico, CBP: carbapenem, C3G: cefalosporinas de tercera generación. C4G: cefalosporinas de cuarta generación. FQ: fluoroquinolonas. PEN: penicilinas, SXT: cotrimoxazol.

A continuación se detallan los datos más relevantes en referencia a las bacterias objeto de este estudio:

Staphylococcus aureus

El hábitat principal de *S. aureus* es la mucosa nasal de animales y humanos. En el hombre, la frecuencia de colonización de la mucosa nasal es muy variable según se trate de colonizaciones persistentes (10-35%) o intermitentes (20-75%). Desde la mucosa pueden colonizarse diversas zonas de la piel como las axilas y el periné. El personal sanitario suele presentar prevalencias más elevadas (50-90%) al igual que las personas con diabetes, tratadas con diálisis o usuarios de drogas por vía parenteral.

S. aureus es naturalmente sensible a las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, macrólidos, lincosamidas, aminoglucósidos, cotrimoxazol y fluoroquinolonas. En 1942 se describieron las primeras cepas con resistencia a penicilina (97,98) por producción de una betalactamasa plasmídica que actualmente se constata en el 90-95 % de las cepas en todo el mundo. Estas cepas son sensibles a las penicilinas isoxazólicas o a la amoxicilina-ácido clavulánico. En los comienzos de la década de los 60, tras la introducción de la meticilina y las penicilinas isoxazólicas (oxacilina, cloxacilina, etc.) se empezaron a detectar de forma esporádica cepas resistentes a esos antibióticos (MRSA, del inglés *methicillin resistant Staphylococcus aureus*). La resistencia en estas cepas se debe a la adquisición del gen *mecA* o de su homólogo el gen *mecC* que se localiza en un elemento genético llamado casete cromosómico estafilocócico (SCC*mec*) (99), y codifica una PBP suplementaria, la PBP2a con baja afinidad por los betalactámicos. La resistencia a las penicilinas isoxazólicas y a la meticilina por este mecanismo, comporta simultáneamente resistencia a todos los antibióticos betalactámicos excepto a ceftobiprole y ceftarolina.

Por otra parte, la resistencia a la meticilina se asocia con frecuencia a resistencia a fluoroquinolonas, macrólidos, aminoglucósidos, dando lugar a cepas multirresistentes.

Staphylococcus aureus resistente a la meticilina tiene una alta prevalencia a nivel mundial, aunque su distribución es muy heterogénea. En España en los últimos años se

han alcanzado tasas de alrededor del 30 % siendo el patrón de resistencia variable en dependencia del clon circulante.

Inicialmente las cepas de MRSA se localizaban en los hospitales pero principios de la década de 1990 empezaron a aislarse cepas de MRSA también en la comunidad (CA-MRSA; *Community associated* - MRSA). Estas cepas inicialmente tenían un perfil fenotípico y genotípico diferente al de las hospitalarias, presentando raramente multirresistencia aunque este hecho diferencial ha variado con los años apareciendo resistencia asociada también en las cepas comunitarias. A pesar de su denominación que las adscribe al ámbito ambulatorio, están adquiriendo relevancia en el ámbito nosocomial, habiendo causado algunos brotes en UCIN (100–103).

A partir del año 2003 se describe una nueva variante epidemiológica de MRSA en animales (LA-MRSA; *Livestock associated* MRSA). Esta variante se ha relacionado principalmente con el complejo clonal CC398 (104–106) .

El factor de riesgo fundamental para que se produzcan infecciones por este microorganismo es la colonización previa, generalmente a nivel de cordón umbilical, periné e ingle (107) y los factores generales y locales existentes en estos niños ingresados en las UCIN. Las infecciones por MRSA en esta población son, sin embargo, poco frecuentes fuera del contexto de un brote (108).

En el año 2006 se aisló *S. aureus* en 55 de los niños ingresados en neonatos, de estos sólo tres pacientes presentaron un aislamiento resistente (5,5 %). De estos tres niños dos estaban colonizados y sólo presentó infección uno de los niños (1,8 %) que además fue incluido en el estudio.

Los glucopeptidos se consideran una alternativa terapéutica para las infecciones por bacterias grampositivas multirresistentes. En 1996 se aislaron en Japón, cepas de *S. aureus* con bajo nivel de resistencia a la vancomicina o VISA, del inglés *Vancomycin intermediate Staphylococcus aureus* o GISA, *Glycopeptide intermediate Staphylococcus aureus* con CMI de vancomicina de 4-8 µg/mL. (109,110). La resistencia se asocia a mutaciones en genes involucrados en la regulación de la fisiología celular (111) y se ha

detectado principalmente tras tratamientos prolongados con dosis subóptimas de vancomicina (< 10 µg/ml).

La significación clínica de las cepas VISA es controvertida aunque se han relacionado con el fracaso terapéutico con vancomicina y una mayor mortalidad en pacientes con bacteriemia por MRSA (112). Diversos estudios han puesto también de manifiesto una peor evolución clínica en cepas de *S. aureus* sensibles a vancomicina pero con una CMI en el límite superior ($\geq 1,5$ µg/mL). Este comportamiento es independiente de la opción terapéutica empleada y se ha relacionado con determinados complejos clonales y otras características genéticas del microorganismo como la disfunción en el operón *agr* (*accessory gene regulator*) que regula la expresión de factores de virulencia, aunque con resultados dispares. Los resultados de estos trabajos llevan a considerar la CMI de vancomicina como indicador de algún factor intrínseco del microorganismo o del huésped que den lugar a una peor evolución clínica (113).

En el año 2002 se describieron en EE.UU. las primeras cepas de *S. aureus* altamente resistentes a vancomicina (> 8µg/mL) y teicoplanina por adquisición del gen *vanA* procedente de *Enterococcus faecalis* (114). Hasta el momento solamente se han detectado 13 cepas en el mundo (115), ocho de ellas en EE.UU. siendo todas ellas resistentes a la meticilina.

Enterococcus

Los enterococos son una de las primeras bacterias que coloniza el tracto intestinal del recién nacido (116), aislándose incluso en los cultivos de meconio sobre todo en niños prematuros y/o de bajo peso. Miedema y colaboradores (117) refieren una tasa de colonización orofaríngea y/o fecal en el 23 % de los niños ingresados en una UCIN holandesa asociándose esta colonización a otros factores como la hospitalización prolongada o el uso de antimicrobianos de amplio espectro.

Constituyen un género del que cinco especies pueden encontrarse en el tubo digestivo del hombre; *Enterococcus faecalis* es la más frecuente, seguida por *E faecium*, *E. durans*, *E. casseliflavus* y *E. gallinarum*. Debido a su resistencia natural, las especies de este género pueden encontrarse en el tubo digestivo de vertebrados e invertebrados, en diversas plantas y en otros nichos ambientales.

Existe una relación entre las especies y su hábitat, que en el caso del hombre puede modificarse por la edad, la dieta y la administración de antibióticos.

Los enterococos muestran sensibilidad disminuida a ampicilina y penicilina así como resistencia de alto nivel a cefalosporinas y penicilinas semisintéticas debido a la expresión de PBP con baja afinidad. Los betalactámicos más activos como ampicilina o penicilina constituyen el tratamiento de elección. La resistencia adquirida a ampicilina es más frecuente en *E. faecium* y se debe a alteraciones en la PBP5 (118). Se han sugerido otros mecanismos involucrada en la resistencia como son la producción de la L-D-transpeptidasa Ldt_{fm}.

Los enterococos son también intrínsecamente resistentes a clindamicina y a trimetoprim-sulfametoxazole. *E. faecalis* es naturalmente resistente a quinupristina-dalfopristina a diferencia de *E. faecium* que es normalmente sensible.

Además presentan resistencia a los aminoglucósidos, hecho que se atribuye a la incapacidad de estas moléculas de penetrar al interior de la célula. En *E. faecium* esta resistencia intrínseca se ve aumentada por la producción de la metiltransferasa EfmM y por la enzima modificadora de aminoglucósidos ACC(6')-II, ambas de codificación

cromosómica. Los aminoglucósidos muestran sinergia con los antibióticos activos frente a la pared celular como los betalactámicos y los glucopéptidos que constituye el tratamiento de elección en infecciones enterocócicas graves como endocarditis. No obstante, el efecto sinérgico puede anularse debido a la producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos que confieren resistencia de alto nivel. Estas enzimas son adquiridos en elementos genéticos móviles y son principalmente de la familia de fosfotransferasas APH(2'')-I o de la familia bifuncional AAC(6')-Ie-APH(2'')-Ia.

En referencia a la resistencia a vancomicina, que es la que interesa más desde el punto de vista clínico-epidemiológico, se han descrito hasta el momento 10 fenotipos (119,120), 8 adquiridos (*vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM*, y *vanN*) y dos naturales (intrínsecos) *vanC1* y *vanC2/vanC3* asociados a las especies *E. gallinarum* y *E. casseliflavus/flavescens* respectivamente. Las primeras cepas de enterococo con resistencia adquirida a vancomicina (EVR) se describieron en Europa en el año 1988 (121,122) y en USA en el año 1989 (123). Los fenotipos de mayor relevancia son *vanA* y *vanB* cuyos genes son de localización plasmídica, lo que facilita su diseminación. La mayoría de EVR son *E. faecium* y dentro de estos la mayor parte de cepas causantes de infección nosocomial pertenecen al complejo clonal de alto riesgo CC17, completamente adaptado al entorno hospitalario y que muestra resistencia asociada a ampicilina y quinolonas (124). La prevalencia de la resistencia varía enormemente en función del área geográfica siendo endémico en algunos países y excepcional en otros. En nuestro medio la resistencia a glucopéptidos en *E. faecium* es inferior al 5% (EARSS-Net 2014).

Enterobacterias

Este grupo de bacterias, con *Escherichia coli* a la cabeza, se halla entre las responsables más frecuentes de infección oportunista en los humanos, siendo el tracto digestivo su reservorio fundamental. Además se localizan en el tubo digestivo de numerosos animales, vegetales y en superficies inertes.

Su progresiva resistencia frente a los antimicrobianos se ha convertido en uno de los problemas sanitarios más relevantes (125). En algunas partes del mundo la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación es superior al 10% en el total de enterobacterias aisladas como causantes de infección nosocomial y del 30% si nos centramos en las aisladas en unidades de cuidados intensivos. Esta resistencia suele ser a expensas de la adquisición de plásmidos de resistencia que contienen además de genes codificadores para betalactamasas de espectro expandido (BLEE), genes que codifican resistencia a otros antimicrobianos como los aminoglucósidos (aac(6')-Ib-cr), las sulfonamidas o las fluoroquinolonas (qnr)(126).

Como datos más recientes, la red europea de vigilancia EARSS refiere un porcentaje de infecciones invasivas por *E. coli* y *K. pneumoniae* resistentes a las cefalosporinas de tercera generación de un 12 y un 18 % en España en el año 2014 (<http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/Pages/index.aspx>).

La introducción de nuevas clases de betalactámicos ha sido seguida invariablemente por la emergencia de nuevas betalactamasas capaces de degradarlos como ejemplo paradigmático de la evolución bacteriana en el contexto de un ambiente selectivo rápidamente cambiante. Esto hace que actualmente se hayan descrito más de 700 tipos de betalactamasas y que estas se hallen entre el grupo de enzimas de resistencia más heterogéneo (127). La coexistencia de estos mecanismos de resistencia con la pérdida de porinas de la membrana externa de estas bacterias (canales para el paso de sustancias hidrofílicas) contribuye al aumento de la resistencia antimicrobiana (128).

En el hospital, el principal vector de transmisión son las manos del personal sanitario, mientras que algunos alimentos contaminados o las mascotas lo serían en la comunidad

(129–131). El consumo abusivo de antimicrobianos en humanos y animales, la transmisión horizontal de estos aislados dentro de los hospitales, la cadena alimentaria, los viajes y los movimientos migratorios son algunos de los factores que han favorecido la diseminación de estas enzimas de resistencia fuera de los hospitales (132).

a. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE): Las BLEEs son enzimas de codificación plasmídica descritas por primera vez en Alemania en 1983. Son más propias de enterobacterias pero también aparecen en bacilos gramnegativos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa*.

Se clasifican en numerosos grupos de acuerdo con la homología de su secuencia de aminoácidos dependiendo la resistencia conferida del tipo de enzima. Los primeros tipos descritos derivaban de mutaciones a nivel de TEM-1, TEM-2 y SHV-1 por lo que las BLEE tipo TEM y SHV fueron las más frecuentes en la década de los 90 (133). Actualmente existen descritas 193 variantes de SHV y 223 variantes de TEM (<http://www.lahey.org/Studies/> consultado el 11 de junio de 2016). Las enzimas de tipo CTX-M, actualmente las más prevalentes derivan de los enzimas cromosómicos de la enterobacteria *Kluyvera*, se describen inicialmente en 1986 en Japón e hidrolizan más a la cefotaxima que a la ceftazidima. Existen ya 172 tipos descritos subdivididos en 6 subgrupos (CTX-M-1, 2, 8, 9, 25 y 45)(134).

Las BLEEs suelen afectar a las ureidopenicilinas, las cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación y a los monobactams. Aquellas derivadas de TEM y SHV inhabilitan sobre todo a la ceftazidima (135) mientras que el principal sustrato de las CTX-M es la cefotaxima. Con respecto al cefepime, las BLEE derivadas de SHV-1 o de algunas CTX-M tienden a disminuir su actividad más que aquellas derivadas de TEM-1 o TEM-2 (136), pero en algunas infecciones producidas por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* BLEEs podría estar al menos el 70% del intervalo de dosis por encima de la CMI (137). Inicialmente se requería el que no inactivaran a las cefamicinas ni a los carbapenems y fueran inhibidas por el ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam pero la aparición de nuevos tipos de enzimas con perfiles hidrolíticos heterogéneos diferentes de los de las clásicas TEM / SHV o de las más prevalentes CTX-M: SFO BES, BEL, TLA, GES/IBC, PER y VEB o ciertas OXA (138) ha hecho que la definición de BLEE se haya modificado no

siendo necesario ya que cumplan todos estos requisitos de actividad. Desde el 2008, se consideran como tales a aquellas betalactamasas generalmente adquiridas y no propias de la especie que puede rápidamente hidrolizar o conferir resistencia a las oxyminocefalosporinas (139) independientemente de que sean inhibidas o no por las combinaciones con inhibidores específicos como el clavulánico.

La difusión de estas bacterias es compleja y combina la expansión de elementos genéticos móviles con la diseminación clonal.

Este tipo de infecciones se ha asociado a un aumento de la duración de la estancia en los hospitales y un aumento del coste de los tratamientos. La elección inadecuada del tratamiento empírico en infecciones graves causadas por estos microorganismos se ha relacionado también de manera independiente con el aumento de la mortalidad (140,141).

En lo que se refiere específicamente a la población neonatal, existen series que describen la presencia de este mecanismo de resistencia hasta un 37 % de los niños ingresados en unidades de cuidados intensivos neonatales (142), sobre todo en *K. pneumoniae* y *E. coli*, relacionándose la presencia de este mecanismo de resistencia generalmente con la infección precoz y las largas estancias de los niños de muy bajo peso. Estos casos suelen asociarse a la presencia de una cepa epidémica que difunde a expensas de un mecanismo de transmisión horizontal.

Los factores de riesgo relacionados, al igual que en los adultos, son múltiples (prematuridad, bajo peso, asfixia perinatal, síndrome de distrés respiratorio, anemia, acidosis metabólica, ventilación mecánica prolongada (>7d), duración de la hospitalización, administración previa de antibióticos, sobre todo cefalosporinas de tercera generación (143,144) y uso de dispositivos invasivos como la cateterización o nutrición parenteral) aunque realmente sólo conservan significación estadística factores como la duración de la estancia hospitalaria, la edad gestacional (145,146), la patología de base del recién nacido o el uso de pautas antibióticas como la combinación de cefalosporinas y aminoglucósidos. De todas formas estos factores de riesgo son los que generalmente se asocian al aumento del riesgo de infección nosocomial y de adquisición

de una bacteria multirresistente y pueden variar de una unidad a otra ya que dependen directamente de aspectos organizativos (ratio enfermería/niño), el nivel de cuidado que requieren los niños, la prevalencia de BLEE en esa población y la política antibiótica del centro (146).

b. Cefamicinasas plasmídicas (enzimas de tipo AmpC plasmídico): Las betalactamasas

de tipo AmpC son cefalosporinasas codificadas en el cromosoma de la mayoría de enterobacterias y otros grupos de bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, y algunas especies de *Aeromonas*. Estas betalactamasas pueden expresarse de forma constitutiva y a bajo nivel, como en *Escherichia coli* o bien de manera inducible, generalmente a alto nivel, como en algunas especies de *Enterobacter*, *Citrobacter freundii*, *Providencia stuartii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Hafnia alvei* y *Yersinia enterocolitica*, entre otras. Confieren resistencia a las cefalosporinas de primera generación como la cefazolina o cefalotina, a las cefamicinas como la cefoxitina (principal diferencia con las BLEE) y a la mayoría de penicilinas y combinaciones de estas con los inhibidores específicos de las betalactamasas salvo piperacilina-tazobactam que algunos autores defienden como menos inductor de la aparición de mutantes resistentes que las cefalosporinas y podría considerarse activo frente a muchas de ellas (147). Diversas mutaciones en el promotor, atenuador o en genes reguladores dan lugar a la producción permanente de valores elevados de betalactamasa que puede condicionar la aparición de resistencias a las cefalosporinas de tercera generación y monoatómicos durante el curso del tratamiento, habiéndose descrito entre el 8 y el 19% en infecciones por *Enterobacter aerogenes* y *E. cloacae* (148,149), lo que obliga a la estricta vigilancia microbiológica del curso de las infecciones graves causadas por estos microorganismos. Las cefalosporinas de cuarta generación como el cefepime suelen conservar su actividad salvo en las variantes de AmpC de espectro extendido (véase más abajo). A pesar de que los carbapenémicos son también inductores, su rápida capacidad bactericida y su estabilidad frente a la hidrólisis, suelen impedir el fracaso terapéutico, aunque también pueden verse afectados si coexiste alguna alteración en las porinas que dificulta su entrada a la célula.

A lo largo de la evolución, el DNA codificador de estas enzimas, inicialmente cromosómico, ha pasado a integrarse en plásmidos con capacidad transmisible lo cual ha favorecido que bacterias que carecían de este tipo de enzimas como *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* entre otras, o que lo poseían pero expresaban débilmente como *Escherichia coli* presenten un patrón de resistencia similar al de la hiperproducción de las betalactamasas AmpC cromosómicas.

Aunque existen indicios de su existencia desde el año 1976 (150), es en el año 1989 (151), cuando se describe de forma inequívoca la transmisión de este tipo de resistencia de *K. pneumoniae* a *E. coli* en una cepa procedente de Corea del Sur, denominándose al enzima responsable CMY-1 por su actividad cefamicinasa. No es hasta el año siguiente cuando Papanicolau (152) consigue documentar la primera AmpC adquirida o de localización plasmídica (AmpCp), la betalactamasa MIR-1, con una homología del 90% con el gen *ampC* de *Enterobacter cloacae*. Desde entonces se han descrito seis familias que se muestran en la Tabla 5 y Figura 2. En el año 2004 Nakano y colaboradores (153) describen en Japón una nueva variante derivada de la AmpC de *C. freundii* que denominan CFE-1 (<http://www.lahey.org/Studies/> consultado el 11 de junio de 2016).

En España, Bou y colaboradores describieron la primera AmpCp en el año 1999 (*E. coli* productor de FOX-4) en un paciente oriundo de Las Palmas de Gran Canaria y casi simultáneamente Navarro y colaboradores describen la primera CMY-2 también en *E. coli* (154). Actualmente este mecanismo está extendido a nivel de todo el país y las AmpCp más prevalentes son las de tipo CMY (CMY-2) y a bastante distancia las de tipo DHA-1(155,156).

Tabla 5: Familias de AmpC de localización plasmídica.

Bacteria de origen	Familia de AmpC	Enzimas
<i>Citrobacter freundii</i>	CIT	CMY (por R a cefamicinas) 136 variantes LAT-1 (por R a latamoxef) 1 variante CFE-1
<i>Morganella morganii</i>	DHA (Dhahran Hosp. Arabia Saudi)	23 variantes
<i>Hafnia alvei</i>	ACC (por Ambler class C)	5 variantes
<i>Aeromonas media</i>	FOX (por R a cefoxitina)	12 variantes
<i>Aeromonas caviae</i>	MOX (por R a moxalactam)	11 variantes
<i>Enterobacter cloacae</i> y <i>E. asburiae</i>	EBC	ACT (por AmpC type) 38 variantes MIR (por Miriam Hosp. en Providence) 18 variantes

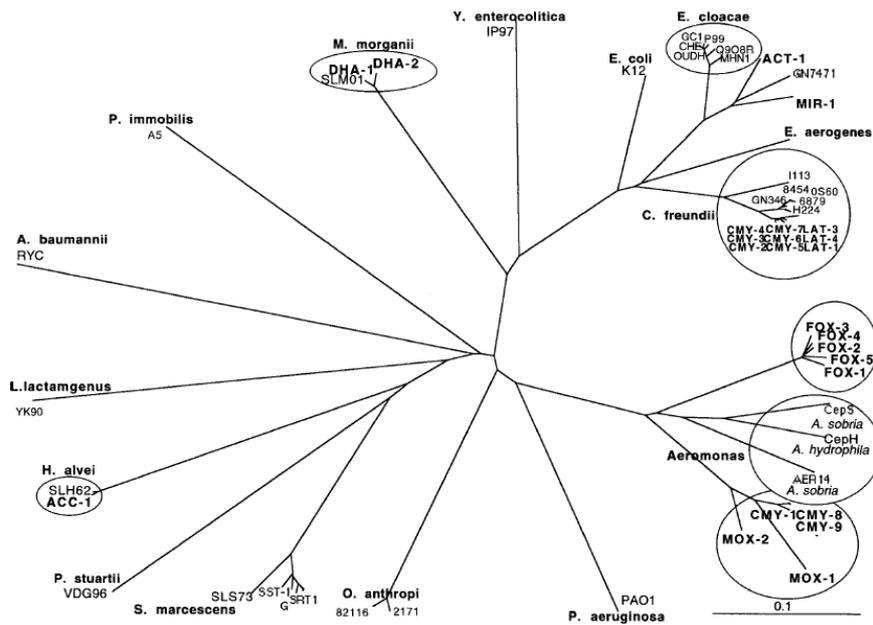


Figura 2: Dendrograma de las betalactamasas AmpC cromosómicas y plasmídicas, tomado de Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Antimicrob. Agents Chemother. 2002; 46: 1–11 (157). La longitud de las ramas es proporcional a las diferencias aminoacídicas.

También se han descrito variantes de betalactamasas AmpC conocidas como AmpC de espectro extendido (ESAC), en las que mutaciones en la proximidad del centro activo

provocan que el espectro de hidrólisis se amplíe a las cefalosporinas de cuarta generación e incluso a los carbapenems(158).

Los plásmidos transportadores de los genes que codifican estos enzimas de tipo AmpC con frecuencia también transportan genes codificadores de otras betalactamasas como TEM-1, PSE-1, CTX-M-3, distintas variantes de SHV-1 e incluso VIM-1 y genes de resistencia frente a aminoglucósidos, cloranfenicol, quinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas. Las resistencias mediadas por AmpC son menos frecuente que las producidas por BLEE (159) aunque la ausencia de técnicas fenotípicas optimizadas para su diagnóstico en los laboratorios asistenciales puede infraestimar su prevalencia.

En la población neonatal (160), la primera referencia a una AmpC es del año 2005 y describe una cepa de *E coli* productora de CMY-2 detectada en un hospital norteamericano causante de sepsis y meningitis en un niño prematuro de 4 días de vida (161). Ese mismo año ya se detecta un brote de sepsis por *K. pneumoniae* BLEE y AmpC en una UCIN India (162). Posteriormente se comunicó un brote que duró más de dos años afectando a 127 niños en un hospital italiano (163) y en los últimos años también se han comunicado brotes, como el ocurrido en China en el que la AmpC se asocia a una carbapenemasa (164).

c. Carbapenemasas: Las carbapenemasas son las β -lactamasas con el perfil de sustrato más amplio, ya que abarcan la mayor parte de β -lactámicos, incluidos los carbapenémicos. La primera detectada fue la SME-1 en Londres en 1982, antes del lanzamiento al mercado del imipenem en 1985. Se clasifican en tres clases moleculares denominadas A, B y D (165).

Entre las carbapenemasas de clase A, la hallada con mayor frecuencia en las enterobacterias es KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase), que presenta actividad hidrolítica sobre todos los β -lactámicos y es inhibida parcialmente por ácido clavulánico, tazobactam y ácido borónico. Otras familias de carbapenemasas de clase A menos frecuentes son SME (*Serratia marcescens* enzyme), IMI/NMC-A (imipenemase/non metallo-carbapenemase-A), SFC-1 (*Serratia fonticola* carbapenemase) y SHV-38 en *K. pneumoniae* aunque las dos últimas son cromosómicas.

Las carbapenemasas de clase B son metalo- β -lactamasas, como las IMP, VIM y NDM que hidrolizan todos los β -lactámicos excepto al aztreonam, y son inhibidas por quelantes de metales como el EDTA y el ácido dipicolínico. Otras metalocarbapenemasas más minoritarias son GIM, SPM, AIM, SIM, DIM, TMB y KHM. Existen metaloenzimas implicadas en mecanismos de resistencia natural en grampositivos (BCII de *Bacillus cereus*) y gramnegativos (L1 de *Stenotrophomonas maltophilia*, CfiA de *Bacteroides fragilis* y las propias de *Flavobacterium*, *Chryseobacterium meningosepticum*, *Aeromonas hydrophila* y *Legionella gormanii*) que no han podido identificarse como causa de resistencia adquirida.

En el grupo de *betalactamasas de clase D*, la más frecuente en enterobacterias es la OXA-48 que hidroliza aminopenicilinas, ureidopenicilinas y carbapenémicos a bajo nivel, pero no afecta a las cefalosporinas de amplio espectro. No se inactiva con los inhibidores de β -lactamasas de uso clínico, pero sí con cloruro sódico *in vitro* (155). Otras carbapenemasas de clase D son, además de la OXA-48, sus derivadas (162, 163, 181, 204, 232, 244, 245 y 247) en enterobacterias, sobre todo en *K. pneumoniae*, OXA-198 en *P. aeruginosa* y los grupos 23, 40, 51, 58, 143 y 235 propias de *Acinetobacter* sp.

Como carbapenemasas adquiridas más frecuentes destaca VIM-2 en *Pseudomonas aeruginosa* y las de tipo KPC (KPC-2) y GES (Guinea *extended-spectrum serine carbapenemase*), sobre todo GES-2 y 4, en enterobacterias. Entre los enzimas KPC algunas requieren, como KPC-2 y 3, de la coexistencia de un déficit de permeabilidad para poder expresar esta resistencia que generalmente se asocia también a resistencia a aminoglucósidos y fluoroquinolonas (166).

La primera cepa detectada en España con este mecanismo de resistencia fue una *P. aeruginosa* productora de VIM-2, aislada en Barcelona en 1996 (167). En 2003 se aislaron, también en Barcelona dos cepas, *E. coli* y *K. pneumoniae*, productoras de VIM-1 (168). Según datos del CNM y del proyecto Euscipe 2015 las familias más prevalentes en el momento actual son OXA-48, seguidas de VIM-1, KPC-2 y NDM-1. La prevalencia de este mecanismo de resistencia en las muestras clínicas en el hospital Vall d'Hebron se sitúa en los adultos, en menos del 1% en *E. coli*, en torno al 2% en *K. pneumoniae* y

aproximadamente en un 4% en *E. cloacae*. La presencia de estas enzimas es anecdótica aún en la población pediátrica (un paciente con un *E. coli* KPC en el año 2015 localizado fuera de la unidad de neonatología).

En lo que refiere a la importancia de los mecanismos citados en la población neonatal, el principal mecanismo de multirresistencia es la presencia de BLEE en *K. Pneumoniae*. Tsai y colaboradores (169) comparan las bacteriemias en las que se aísla un bacilo gramnegativo multirresistente (mayoritariamente enterobacterias) con aquellas por bacilos gramnegativos no multirresistentes. Este estudio revela que la adquisición de una bacteriemia por un bacilo gramnegativo multirresistente no se asocia con el hecho de ser un prematuro extremo pero sí se asocia a la exposición previa a cefalosporinas de tercera generación y carbapenems.

Pseudomonas aeruginosa

Es uno de los principales microorganismos causantes de infección nosocomial debido a su capacidad para sobrevivir y replicarse en diversos nichos ecológicos propios del hospital (grifos, desagües, respiradores e incluso en detergentes, cremas y desinfectantes).

Su perfil de resistencia viene condicionado por poseer una cefalosporinas cromosómica AmpC inducible, principal responsable de la resistencia intrínseca frente a algunos betalactámicos como aminopenicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación y alguna de las de tercera como cefotaxima y ceftriaxona. La resistencia basal a los betalactámicos puede verse también influenciada por la producción de otras dos betalactamasas cromosómicas, la enzima de tipo OXA PoxB/OXA-50 y la recientemente descrita imipenemasa PA5542 (170). Es resistente al ertapenem por la impermeabilidad de su membrana.

Otra característica que condiciona su perfil de resistencia es la posesión de cuatro sistemas de expulsión entre los cuales MexAB-OprM es el único que es activo de forma constitutiva y condiciona la sensibilidad basal de los betalactámicos (excepto

imipenem), fluoroquinolonas, trimetoprim, cloranfenicol y tetraciclina, mientras que la expresión inducible de MexXY determina la de los aminoglucósidos.

A parte de su resistencia intrínseca, *P. aeruginosa* presenta una remarcable capacidad de desarrollar resistencia a todos los antibióticos disponibles por mutación en genes cromosómicos. El principal mecanismo de resistencia a penicilinas antipseudomonas, cefalosporinas de amplio espectro y aztreonam son mutaciones que intervienen en la regulación de la expresión del gen *ampC* y dan lugar a una hiperexpresión de la betalactamasa AmpC. La inactivación de la porina OprD confiere resistencia a imipenem. La hiperproducción de alguna de las cuatro bombas de expulsión intrínsecas contribuye a la resistencia de betalactámicos, fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

La resistencia a fluoroquinolonas se produce como consecuencia de mutaciones en las topoisomerasas.

Se ha descrito de forma esporádica resistencia a colistina debido a modificaciones en el lipopolisacárido.

Aunque ya se ha descrito que el principal mecanismo de resistencia adquirida es mutacional, *P. aeruginosa* puede adquirir genes de resistencia por transferencia horizontal. Entre los determinantes adquiridos destacan las betalactamasas, incluyendo las de espectro extendido (BLEE) y las carbapenemasas. Las BLEE detectadas en *P. aeruginosa* con más frecuencia son las de clase D (derivadas de OXA-2 y OXA-10) y algunas de clase A como PER, VEB, GES, BEL, PME. Entre las carbapenemasas adquiridas las más frecuentes son las de clase B tales como VIM e IMP; otras como NDM, SPM, GIM, FIM aparecen de forma esporádica y con una distribución geográfica más restringida. También se ha descrito ocasionalmente en pseudomonas carbapenemasas de clase A de tipo GES y KPC.

La resistencia a aminoglucósidos es debida principalmente a la adquisición de enzimas modificadoras siendo las más frecuentes AAC(3'), AAC(6') y ANT(2')-I. También se han descrito las metilasas Rmt y Arm que confieren resistencia a todos los aminoglucósidos de interés clínico.

La prevalencia de cepas multiresistentes (94) está incrementando en las últimas décadas en muchas áreas geográficas, con una proporción importante de cepas extremadamente resistentes.

Acinetobacter baumannii

Es un bacilo gramnegativo que pertenece al grupo de los bacilos gramnegativos aerobios estrictos no exigentes (no fermentadores). Está reconocido como uno de los principales oportunistas nosocomiales, sobre todo en unidades de cuidados intensivos y es causante de importantes brotes epidémicos en los hospitales (171–174).

A. baumannii se agrupa dentro del complejo *A. baumannii* complex formado por las especies *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* y *A. calcoaceticus*. *A. pittii* y *A. nosocomialis* se encuentran implicados cada vez con mayor frecuencia en infecciones nosocomiales mientras que *A. calcoaceticus* se considera un patógeno ambiental con menos significación clínica.

Su capacidad para crecer en un amplio margen de temperaturas y de pH, así como de sobrevivir en cualquier superficie (humidificadores, monitores...) hacen de él una bacteria de difícil eliminación una vez se ha instaurado en un centro.

Antes de la década de los 70 esta bacteria era muy sensible a los antibióticos, pero a partir de esa fecha ha ido incrementando su resistencia, pudiendo detectarse cepas panresistentes (175).

A. baumannii produce dos betalactamasas de codificación cromosómica. La cefalosporinasa de tipo AmpC (ADC), no inducible, que generalmente se expresa poco y no afecta a cefalosporinas de amplio espectro y la betalactamasa OXA-51 que hidroliza carbapenémicos a bajo nivel. En ambos casos la presencia de secuencias de inserción en la región promotora puede traducirse en una mayor expresión con lo que se incrementa el nivel de resistencia a betalactámicos.

Además de la resistencia intrínseca a betalactámicos, se han descrito diversas betalactamasas adquiridas. Las betalactamasas de amplio espectro (BLEE) más

frecuentes son las de tipo PER, GES y VEB. Dentro de las carbapenemasas las más frecuentes son las de tipo OXA, principalmente los subgrupos OXA-23, -24/40, -58 y -143. También se han descrito carbapenemasas de clase B como IMP, VIM, SIM y NDM y con menor frecuencia de clase A como KPC y GES.

Poseen diversas bombas de expulsión (AdeABC, AdeIJK y AdeFGH) que puede experimentar una modificación en su regulación comportando resistencia a diversos antibióticos como ceftazidima, amikacina, meropenem, fluoroquinolonas y rifampicina entre otros.

Pueden adquirir mutaciones en las topoisomerasas que les confieren resistencia de alto nivel a las fluoroquinolonas.

La resistencia a los aminoglucósidos se debe a la adquisición de plásmidos portadores de enzimas inactivantes como AAC(3')-I y AAC(6')-Ib y APH(3')-VI, habiéndose descrito también la producción de la metilasa ArmA que confiere resistencia cruzada a todos los compuestos de esta familia.

Ocasionalmente se ha descrito resistencia a colistina por modificaciones o pérdida completa del lipolisacárido.

Se han comunicado brotes en unidades neonatales por especies de *Acinetobacter* resistentes a quinolonas y aminoglucósidos y sensibles a los carbapenémicos (176–178).

Stenotrophomonas maltophilia

Es un bacilo gramnegativo que pertenece al grupo de los bacilos gramnegativos aerobios estrictos no exigentes (no fermentadores) y en la mayoría de las series es el no fermentador aislado con más frecuencia después de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, causando neumonía y sepsis (179–181).

Su reservorio suele ser ambiental, pudiendo multiplicarse en superficies húmedas y en soluciones antisépticas débiles.

Es resistente a todos los betalactámicos, incluyendo la ticarcilina, la cefotaxima y al imipenem, aunque en ocasiones es sensible a la ceftazidima y la piperacilina-tazobactam. La resistencia se debe a que presenta una membrana externa muy poco permeable y dos betalactamasas cromosómicas, L1 (metalobetalactamasa) y L2 (BLEE de clase A). La expresión de los genes de L1 y L2 es variable. Alguna cepa puede carecer de L2. Se ha descrito el paso de estos genes cromosómicos a plásmidos (182). Además se ha observado la presencia de BLEE plasmídicas como CTX-M-15 (183).

Sme, ABC y DEF son bombas de expulsión, que causan resistencia al meropenem y a ciprofloxacino. Sme DEF también produce resistencia frente a las tetraciclinas, el cloranfenicol, la eritromicina, la norfloxacina y la ofloxacina.

Los aminoglucósidos no son activos debido a la existencia de mutaciones en las proteínas de la membrana externa y/o en el lipopolisacárido que condicionan una escasa permeabilidad al interior de la bacteria. Además la mayoría de las cepas producen enzimas modificadoras como la acetilasa AAC (6')Iz o la fosfotransferasa APH(3'')-II.

Así, en la práctica, como opciones terapéuticas sólo se dispone del cotrimoxazol y de las fluoroquinolonas como levofloxacino, más activa que ciprofloxacino para este microorganismo.

Se consideran la segunda causa, tras *K. pneumoniae* de neumonía asociada a ventilación mecánica en el neonato (181,184,185,185). Además puede producir un amplio abanico de infecciones que abarcan desde la sepsis grave a la conjuntivitis. Puede aparecer en

forma de brotes epidémicos (186), habiéndose aislado en grifos, depósitos de agua de humidificadores, nebulizadores, equipos de respiración asistida y bañeras entre otras fuentes ambientales.

Los principales factores de riesgo de padecer una de estas infecciones son las hospitalizaciones prolongadas, en particular en unidades de cuidados intensivos, así como el antecedente de haber recibido antibióticos, sobre todo carbapenems y aminoglucósidos (181,187) pero también ceftazidima y quinolonas (188), o de haber padecido un procedimiento invasivo. Otros factores de riesgo considerados son la inmunosupresión propia del neonato, la nutrición parenteral, el uso de esteroides o antagonistas de los receptores H2 y la presencia de colestasis este último probablemente como indicador indirecto de la nutrición parenteral (184).

ESTABLECIMIENTO DE LA FLORA NORMAL

En los humanos, la piel, la mucosa nasal, la boca, la faringe, el intestino, la uretra distal y la vagina están normalmente colonizados por diversos microorganismos, principalmente bacterias, aunque también pueden encontrarse levaduras y protozoos.

La composición de la flora normal (FN) humana difiere según el territorio considerado, pero también en dependencia de la edad y otros factores. Además, existe una cierta variación entre personas de la misma edad. La presencia y persistencia de un microorganismo en un determinado territorio del cuerpo se debe a diferentes factores conocidos como su capacidad de adhesión, la disponibilidad de nutrientes, la existencia de una atmósfera adecuada y la posibilidad de sobrevivir ante la presencia de sustancias bacteriostáticas/cidas como los ácidos grasos de la piel o las sales biliares en el intestino y otros factores menos precisados. En el adulto, en la piel, la conjuntiva y mucosa nasal predominan de modo casi absoluto los estafilococos y las corinebacterias; en el tubo digestivo hay una abundantísima flora muy variada que alcanza concentraciones de 10^{11-12} bacterias por gramo de heces, formada por bacterias anaerobias, enterobacterias y enterococos entre otras, incluyendo arqueobacterias y bacterias no cultivables. En la vagina predominan los lactobacilos.

CARACTERÍSTICAS Y ADQUISICIÓN DE LA FN POR EL RECIÉN NACIDO

Tradicionalmente se ha considerado que durante el embarazo el hábitat fetal es estéril. Actualmente esta aseveración ha sido cuestionada (189). Sin embargo la colonización propia del recién nacido se produce de forma secuencial desde el nacimiento (190).

El tipo de flora que colonizará el recién nacido está determinado por numerosos factores entre los que destacan la edad gestacional, la vía del parto (vía vaginal o cesárea), el tipo de alimentación (lactancia materna o artificial) y el entorno que rodea al neonato (permanencia en el hospital y administración de antibióticos tanto a él como a la madre) (190–192) Ver figura 3.

En los niños nacidos por parto vaginal los primeros gérmenes colonizantes proceden del tracto genital materno y son anaerobios facultativos (*Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*

y *Saccharomyces*). Este proceso tiene lugar en las primeras 24-48 h de vida y puede estar condicionado por la administración profiláctica de antibióticos en los momentos previos al parto. A partir del tercer día, van colonizando el intestino bacterias facultativas como las enterobacterias, los enterococos y lactobacilos, que contribuyen activamente a crear un ambiente anóxico que permite la colonización por bacterias anaerobias estrictas como las pertenecientes a los géneros *Bifidobacterium*, *Bacteroides* y *Clostridium* entre otras, aumentando progresivamente la concentración de microorganismos hasta alcanzar 10^{9-10} ufc por gramo de heces después del décimo día de vida (la concentración en el adulto es de aproximadamente 10^{11-12}). Progresivamente se produce la colonización del niño en la piel, la orofaringe y el tracto genito urinario siendo la flora, a las pocas semanas de vida, muy compleja y variada en todos los territorios.

El tipo de parto condiciona la composición de la flora, de manera que el parto por vía vaginal favorece el contacto del recién nacido con la flora de su madre mientras que los niños nacidos mediante cesárea presentan una menor variabilidad de especies y una mayor concentración de bacterias como *Clostridium perfringens* (193), que al ser fuertemente reductoras producen disminución del potencial redox en las heces del neonato, favoreciendo la colonización posterior por otras bacterias como *Bacteroides* y otros anaerobios incluyendo diferentes especies de clostridios (194). Estas diferencias son observadas también a nivel de los prematuros en los que la colonización por lactobacilos y bifidobacterias tiene lugar de forma más tardía quizás debido a que estos niños pasan, tras el nacimiento, a vivir en un ambiente aséptico y a que el contacto con sus madres es mucho menor (195).

La lactancia materna, al disminuir el pH e inhibir así el desarrollo de una flora proteolítica parece favorecer, durante este primer mes de vida, el desarrollo de una flora intestinal compuesta mayoritariamente por bifidobacterias. Además en la flora fecal de estos niños predominarán también las enterobacterias mientras que en los niños que reciben lactancia artificial predominan bacterias anaerobias de los géneros *Bacteroides*, *Clostridium* y *Eubacterium* que tardan bastante en colonizar a los niños alimentados mediante lactancia natural (196). El intestino de los niños de muy bajo peso al nacer (800-1350 g.) alimentados con leche materna, se coloniza inicialmente, al igual que los

niños de peso normal, pero difieren de los anteriores en el hecho de que este tipo de flora se perpetua por más tiempo retrasándose el establecimiento de la flora bifidobacteriana (10 vs. 4 d); esto parece deberse sobre todo a la baja cantidad de leche que ingieren. La prematuridad y la hospitalización prolongada se asocian a la disminución del número de bifidobacterias y bacteroides. Además el número de estafilococos viables en sus heces es mayor que en los niños de peso normal (190,197).

Este tipo de flora se hace más compleja y variable a partir de la diversificación de la alimentación, aproximándose su composición a la del adulto a partir de los dos años de vida.

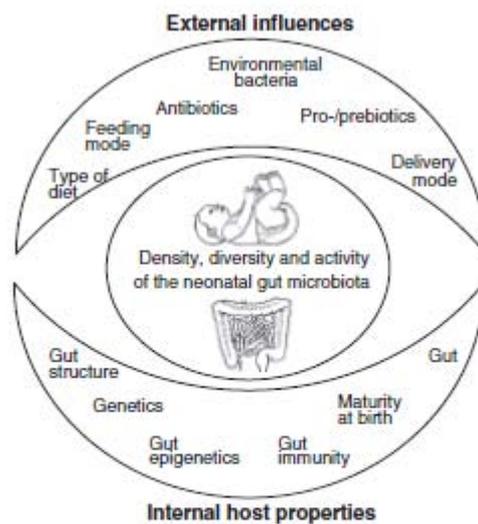


Figura 3: Factores condicionantes de la colonización intestinal del neonato. Tomado de Cilieborg MS, y cols. *Early Human Development*. 2012 Mar;88:S41–9.

ACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS SOBRE LA FLORA NORMAL

Las acciones de los antibióticos sobre la flora normal dependen del tipo de fármaco, de la vía de administración, la dosis y la duración del tratamiento, pero generalmente se observa un sobrecrecimiento de candidas, enterococos y bacilos gramnegativos facultativos y aerobios estrictos, que potencialmente pueden producir procesos invasivos (198).

Los antibióticos liposolubles como los macrólidos, las lincosaminas y la rifampicina se eliminan con la saliva y alteran la flora orofaríngea. Los betalactámicos no se concentran lo suficiente en este territorio para forzar un cambio drástico de la flora, pero sí que son capaces de seleccionar cepas de neumococo, estreptococos viridans, prevotelas y otras bacterias que son resistentes o moderadamente resistentes frente a ellos (199–201). En el intestino, las alteraciones más importantes se producen tras la administración de antibióticos activos frente a la flora anaerobia como la clindamicina, la amoxicilina-clavulánico, la cefoxitina, el metronidazol o los que se concentran en la bilis como la ceftriaxona y la cefoperazona. Aunque los antibióticos que no se absorben por vía oral alteran la flora, los que se absorben también pueden alterarla notablemente, ya que algunos como la amoxicilina alcanzan concentraciones altas en la mucosa intestinal a la que llegan por vía hemática.

En los prematuros, los tratamientos empíricos con antibióticos de amplio espectro, ante la sospecha de sepsis, pueden fomentar la colonización y/o la selección de bacterias multirresistentes (202,203). Los resultados de un estudio clínico cruzado publicado por de Man *et al* en el año 2000 (203) que comparan dos pautas de antibióticos ponen de manifiesto que el riesgo relativo de colonización con cepas multiresistentes por 1000 pacientes-día es 18 veces mayor con la pauta de más amplio espectro (amoxicilina más cefotaxima) que con la de menor espectro (penicilina o cloxacilina más tobramicina). En la pauta de espectro restringido el bacilo gramnegativo predominante fue *E. coli* (53%) mientras que en los niños que recibieron la pauta amoxicilina más cefotaxima, fue *E cloacae* (77% de los BGN aislados).

Cabe señalar que algunas de las bacterias aerobias estrictas como *P. aeruginosa*, que frecuentemente presentan perfiles de multirresistencia, también pueden multiplicarse y persistir en el tubo digestivo gracias a que los nitratos actúan como aceptores de electrones en lugar del oxígeno.

COLONIZACION POR BACTERIAS MULTIRRESISTENTES

En el hospital y en particular en las unidades de prematuros o cuidados intensivos existe un mayor riesgo de que el recién nacido se colonice por bacterias resistentes o multirresistentes.

Aunque estas bacterias pueden adquirirse en una pequeña proporción a partir de la madre (146), entre los factores que facilitan la colonización y el el sobrecrecimiento de esta flora resistente y la consiguiente transmisión a otros pacientes figuran factores intrínsecos al propio paciente y otros de tipo iatrogénico como se muestra en la **figura 4** (204):

1. Exposición a microorganismos típicamente nosocomiales. Se considera que las manos del personal sanitario son el principal vehículo de transmisión horizontal de los microorganismos. Las superficies ambientales pueden ser un reservorio de aquellos que soportan bien las condiciones del medio exterior. Los dispositivos médicos contaminados también pueden ser vehículos de transmisión. El aumento de la gravedad de la enfermedad y la duración prolongada de la estancia aumentan las oportunidades de adquirir uno de estos patógenos.

2. Reducción de la acidez gástrica. El pH ácido del estómago reduce el número de microorganismos ingeridos que alcanzan el tracto intestinal. Más del 99,9% de las bacterias coliformes ingeridas no sobreviven más de 30 minutos en presencia de un pH gástrico normal. Así los fármacos que aumentan el pH gástrico (inhibidores de la bomba de protones y anti-H2) se asocian con la colonización intestinal por bacterias patógenas (*C. difficile*, *S. aureus*, enterococo resistente a vancomicina y bacilos gramnegativos) y lo mismo ocurre con las sondas nasogástricas y/o de alimentación enteral que de alguna forma se saltan esta barrera gástrica. Además las sondas, favorecen la colonización

orofaríngea por bacilos gramnegativos como *P. aeruginosa* con gran capacidad de adherencia a este tipo de materiales.

3. Alteración de la microflora colónica, sobre todo por los antibióticos excretados en el tracto intestinal capaces de ejercer presión selectiva sobre la microflora normal y por tanto de favorecer el sobrecrecimiento de la flora resistente. Esto facilita también la transferencia de genes de resistencia entre distintas especies que coexisten a nivel intestinal.

4. Colonización intestinal. Una vez colonizado el intestino de un niño por bacterias multirresistentes este se convierte en un reservorio importante y en ocasiones estable. Además la diseminación de estas bacterias desde el intestino a la piel del paciente y las superficies inanimadas de su entorno son puntos a partir de los cuales se contaminan las manos del personal. La incontinencia fecal y la diarrea contribuyen a este tipo de difusión.

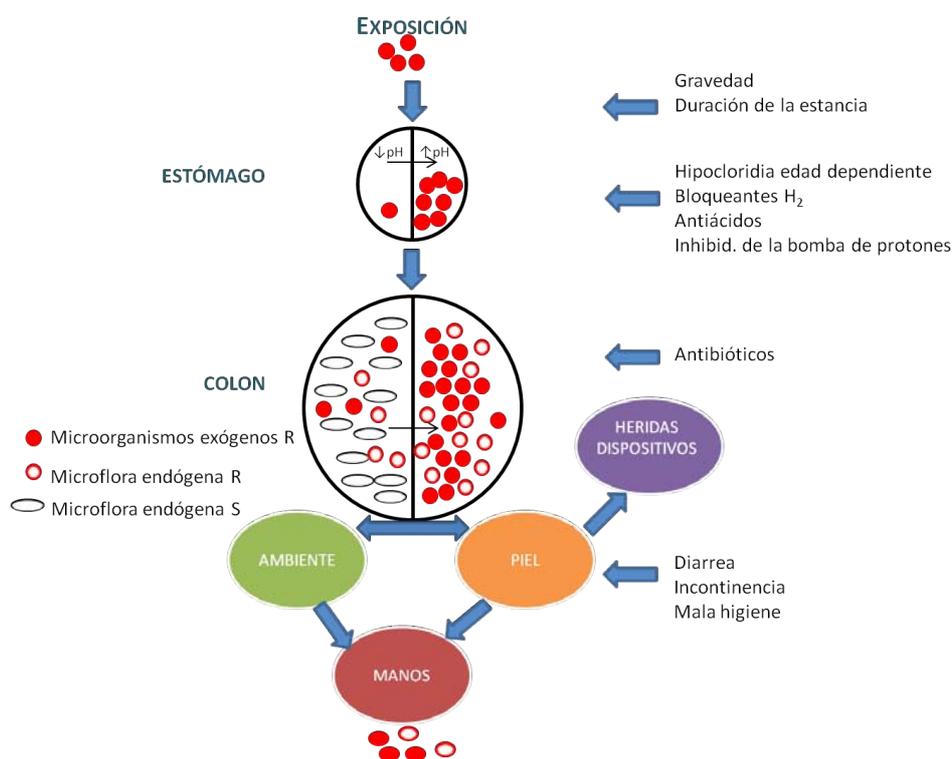


Figura 4: Factores que facilitan el sobrecrecimiento intestinal y la transmisión de bacterias nosocomiales.

La mitad izquierda de los círculos ilustra la presencia de acidez normal en el estómago y de la microflora endógena normal en el colon. La mitad derecha ilustra los efectos de un aumento de pH en el estómago y de la presión selectiva por parte de los antibióticos en el colon. R: resistente; S: sensible.

Una vez adquiridos, estos microorganismos pueden ser fácilmente transmitidos de un paciente a otro al ser capaces de sobrevivir durante periodos de tiempo prolongado en las manos del personal sanitario, en productos médicos, en las tuberías y desagües y en fómites o superficies inanimadas como se muestra en la figura 4 y la tabla 6 (205,206).

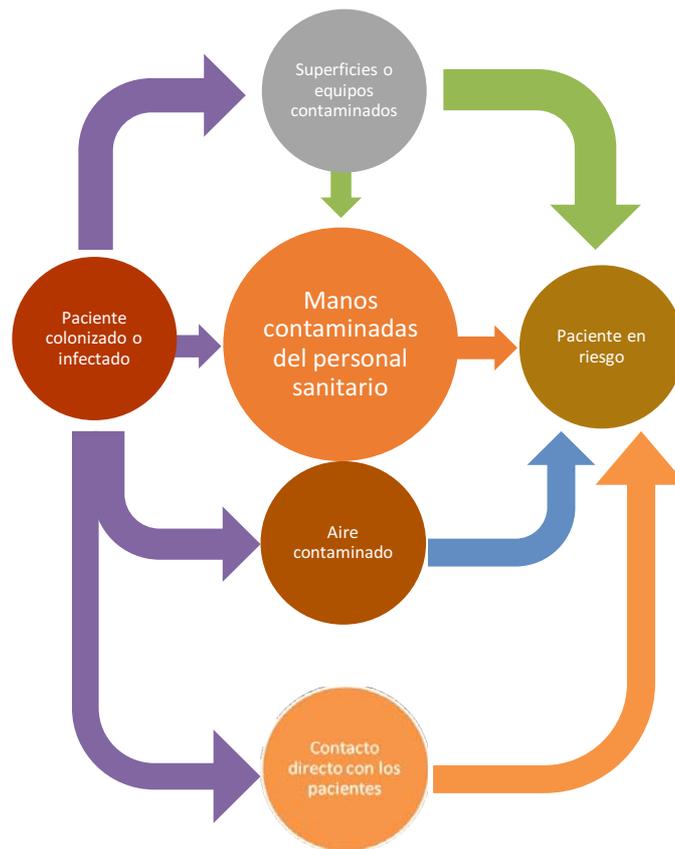


Figura 5: Rutas de transmisión de microorganismos multirresistentes.

El intestino constituye un importante reservorio de los principales patógenos nosocomiales como *Enterobacteriaceae* y otros bacilos gramnegativos, *Clostridium difficile*, *Enterococcus* sp., *Candida* sp. e incluso de *S. aureus*.(204)

Tabla 6: Persistencia de bacterias clínicamente relevantes en superficies inanimadas(205).

Microorganismo	Duración de la persistencia (rango)
<i>Acinetobacter</i> sp.	3d-5m
<i>Escherichia coli</i>	1,5h-16m
<i>Enterococcus</i> sp.	5d-4m
<i>Klebsiella</i> sp.	2h->30m
<i>Proteus vulgaris</i>	1-2d
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6h-16m
<i>Serratia marcescens</i>	3d-2m
<i>Staphylococcus aureus</i>	7d-7m

h: horas; d: días; m: meses.

CONSECUENCIAS DE LA COLONIZACIÓN

Las BMR que colonizan a los neonatos proceden del entorno hospitalario y son transmitidas a los niños por contacto por personal sanitaria. Por ello, resulta evidente que el exceso de niños en una UCIN o el déficit de personal sean factores favorecedores de la diseminación de los microorganismos multirresistentes. Se ha de tener presente que también los familiares que visitan y atienden al niño pueden desempeñar un papel importante en la transmisión de estos microorganismos (207) de ahí la importancia de la educación de las familias al respecto.

Si entendemos la colonización como paso previo a la infección, esta resulta particularmente importante en un grupo tan susceptible como el que nos ocupa. Smith y colaboradores refieren, tras estudiar dos UCIN en Nueva York, que el 98% de las bacteriemias por bacilos gramnegativos están precedidas de colonización intestinal por la misma especie y con el mismo perfil de resistencia (208). Una vez establecida la colonización en el niño, esta puede persistir todo el tiempo del ingreso. Así, 6 meses

después del alta, Millar y colaboradores (209) objetivan mediante la técnica de amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPDs), la persistencia de *E. coli* y *Klebsiella* sp. en 9 de los 34 (26,5%) y 4 de los 56 (7%) niños colonizados inicialmente. Un estudio reciente ya no permite detectar estos microorganismos a los dos años de vida en niños colonizados o infectados por estas bacterias a su paso por una unidad neonatal (210).

MEDIDAS DE CONTROL DE LAS BACTERIAS MULTIRRESISTENTES

La realización de cultivos de vigilancia es un tema controvertido en periodos interepidémicos. El resultado de estos cultivos de vigilancia puede inducir a tomas medidas innecesarias o no justificadas en base a su eficacia: pueden implicar un sobreaislamiento y el consiguiente déficit de camas en la unidad que comporta retraso en las intervenciones quirúrgicas y bloqueo de los ingresos desde otros centros menos especializados. Asimismo, pueden inducir al uso de antibióticos de amplio espectro o de reserva para los tratamientos empíricos de estos niños. Dado que en algunos trabajos (208) se ha establecido que los principales factores de riesgo de padecer una bacteriemia por una bacteria propia de la flora del niño son el uso prolongado de catéteres centrales y de fármacos inhibidores de la bomba de protones o antagonistas de los receptores H₂, los autores responsables de los mismos proponen realizar frotis rectales de vigilancia sólo a los niños de alto riesgo con el objeto de guiar según el resultado de los mismos el tratamiento empírico de los episodios de sepsis tardía.

Parm tras analizar dos UCIN de tercer nivel en Estonia, refiere que la colonización por cualquier todos los microorganismo multirresistente, excepto *Escherichia coli*, está influenciado por la duración de la estancia en la unidad de cuidados intensivos. Existen además otros factores especie específicos que pueden indicar la forma de adquisición de la bacteria MR. Así mientras la colonización por *E. coli* y *C. albicans* se asocia con factores perinatales como el nacimiento a término, el parto vaginal o la lactancia materna, la colonización por otras enterobacterias como *K. pneumoniae* y *E. cloacae*, *Acinetobacter* sp. y especies de *Candida* no *albicans* están más determinados por la extrema prematuridad (≤ 28 s) y el entorno hospitalario (instrumentaciones, tratamientos y duración del ingreso así como coexistencia con otros niños y ratio

enfermera-paciente) transmitiéndose por las manos del personal sanitario o a través de instrumental o equipos contaminados (211).

Otras medidas como la descolonización del niño no están recomendadas por el impacto ecológico que supone.

De todo esto deriva la gran importancia de la higiene de manos (212,213) como medida preventiva fundamental de este tipo de colonizaciones así como la adecuada limpieza y desinfección de los equipos utilizados en el cuidado de estos niños.

En cuanto a otras acciones a adoptar, parece razonable evitar una excesiva sobrecarga de estas unidades tanto en cuanto al número de niños ingresados, así como a la proporción del personal encargado de su cuidado.

Es fundamental la revisión permanente de los tratamientos antibióticos activos en cuanto a la adecuación precoz cuando se disponga antibiograma y a la indicación y duración de los mismos, así como el papel de las actividades formativas del personal y también de las familias de los niños encaminadas a la prevención de la generación y diseminación de las resistencias.

OBJETIVOS

A. Objetivo global

Observar el grado de colonización por bacterias multirresistentes de los niños de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital Vall d'Hebron y determinar la capacidad de estas bacterias para causar enfermedades infecciosas en los niños colonizados.

B. Objetivos parciales

Para alcanzar el objetivo global se determinarán los siguientes objetivos parciales

1. Evaluar en cada niño, a su ingreso, la flora grampositiva y gramnegativa multirresistente que coloniza el intestino y su evolución durante su permanencia en la UCIN.
2. Controlar de modo regular en los niños ingresados la dinámica de la flora grampositiva y gramnegativa multirresistente que coloniza su intestino.
3. Determinar la transmisión cruzada de los microorganismos resistentes entre los niños de la UCIN.
4. Estudiar las enfermedades infecciosas esporádicas o endémicas aparecidas en los niños ingresados durante el tiempo de estudio y su relación con la flora multirresistente de colonización intestinal.
5. Estudiar y caracterizar los brotes epidémicos ocasionados por bacterias multirresistentes que se produzcan durante el periodo de estudio y establecer su relación con la flora intestinal.
6. Investigar los mecanismos genéticos de resistencia de las bacterias aisladas de la población estudiada para poder determinar si ha existido transferencia genética entre las bacterias de la Unidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS NEONATALES

Este trabajo se ha realizado en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital Universitario Vall d'Hebron que es un hospital público, de tercer nivel y universitario.

El Servicio de Neonatología es una unidad que esta compartimentada en boxes, situados a ambos lados de un pasillo, que conforman tres unidades adyacentes una de otra, en las que se ingresaban los niños en función de su gravedad.

Hay 6 boxes de cuidados intensivos, boxes A-F (aproximadamente 38 plazas con un promedio de 26 niños ingresados/día en el periodo de estudio), 3 boxes de cuidados intermedios: 1-3 (14 plazas) y tres boxes de cuidados mínimos: 4-6 (18 plazas); totalizando 67 plazas incluyendo incubadoras y cunas (Figura 6). Durante este periodo la media de ocupación fue de 58 niños/día.

El flujo de niños entre una unidad y otra, sobre todo entre intensivos e intermedios, era frecuente en ambos sentidos condicionado por la evolución de los pacientes.

PERIODOS DE ESTUDIO Y DE INTERESTUDIO:

El estudio de la flora de colonización multirresistente se realizó en tres periodos, cada uno de los cuales tuvo una duración de un mes, denominándose “periodos de vigilancia activa” (PVA). Entre cada uno de los PVA transcurrió un mes en el que no se realizó búsqueda activa de las colonizaciones, correspondiendo por tanto al “periodo de vigilancia pasiva o interperiodo” (IP). Durante el IP no se realizó una búsqueda programada de bacterias multirresistentes (no se efectuaron cortes de prevalencia) por tratarse de un periodo de vigilancia pasiva aunque se continuó la vigilancia de los niños ingresados para detectar infecciones; y en los casos en que se aislaban cepas consideradas multirresistentes en las muestras estudiadas con finalidad diagnóstica, se incluyeron en el estudio.

El primer PVA transcurrió desde el 7 de marzo al 4 de abril, el segundo PVA desde el 2 al 31 de mayo y el tercer PVA desde el 4 de julio al 1 de agosto del año 2006.

Durante estos periodos se recogieron las muestras para la detección de las BMR y los datos clínico-epidemiológicos. Ver petición y protocolo adjunto en el Anexo 1 y 2.

La duración de las colonizaciones se establece contando los días desde que se detecta el microorganismo por primera y última vez o cuando hay un cultivo posterior negativo, hasta la víspera de ese cultivo (criterio arbitrario). Aunque se intenta establecer la duración de las colonizaciones detectadas por cultivos no reglados, sólo se contabilizan, para establecer el promedio de días de colonización, aquellas calculadas a partir de los cultivos programados en el estudio.

La persistencia de colonización por BMR en estos niños en periodos diferentes al de entrada obligaría a incluir a un mismo niño en varios periodos. Así se decidió que, con el objeto de no complicar la exposición de los datos, todas las colonizaciones o infecciones referidas a ese niño se detallan en el periodo de vigilancia en el que el niño se incorpora al estudio independientemente del periodo cronológico en el que aparezca esa colonización / infección.

De la misma forma si un niño permanece en el hospital fuera de la UCIN y presenta colonización o infección por una bacteria multirresistente a partir de cultivos no reglados, estas se contabilizan en el periodo en el que ingreso ese niño en la UCIN independientemente de la fecha en la que se detectaran estas.

Cuando el niño ingresa durante un interperiodo pero entra en el estudio en el periodo de vigilancia activa posterior, en el caso en que se detecte colonización, se tiene en cuenta en el PVA en que el niño se incorpora al estudio.

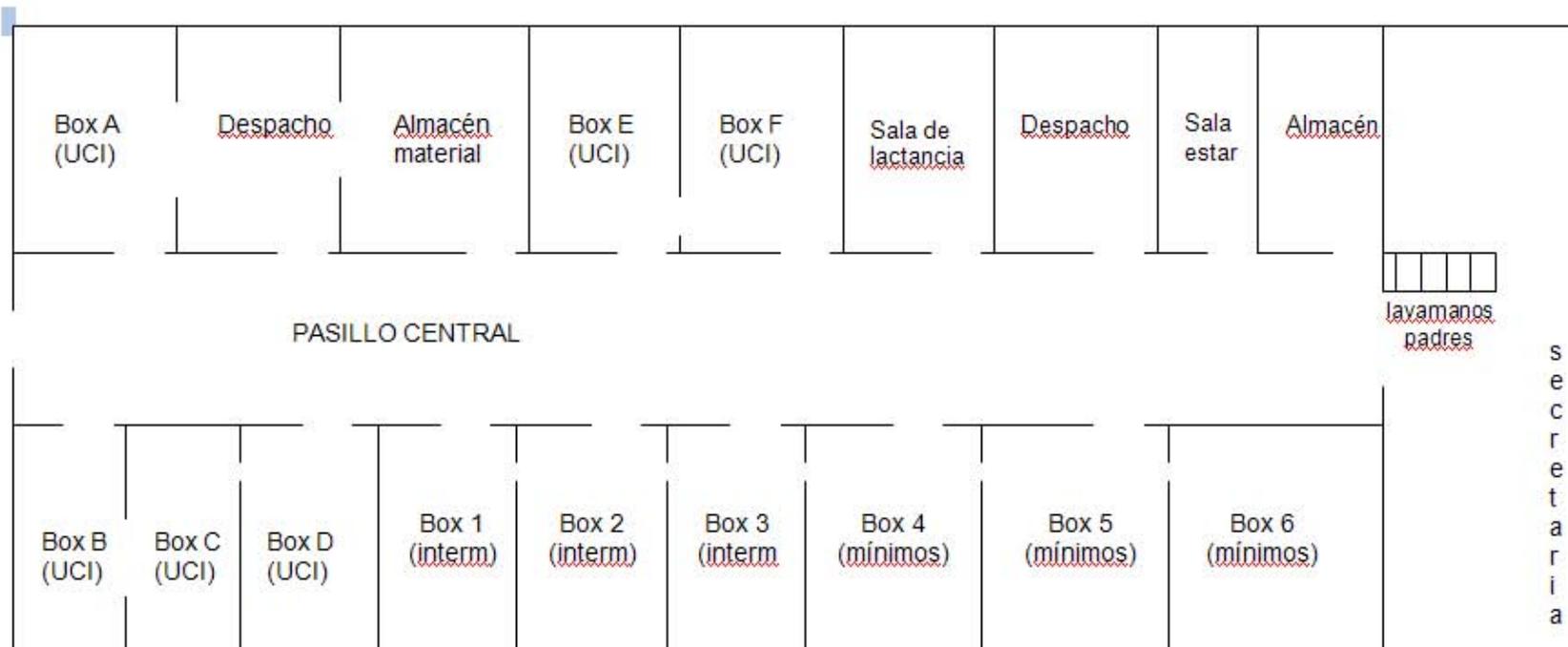


Figura 6: Distribución de la Unidad de Neonatología del Hospital Vall d'Hebron. Cuidados intensivos e intermedios. Año 2006.

PACIENTES

El estudio comprende a los niños ingresados en la unidad de intensivos neonatales (UCIN) entre el 7 de marzo de 2006 y el 1 de agosto de 2006.

Al inicio del primer periodo se incluyeron en el estudio 23 niños que ya estaban ingresados, incorporándose posteriormente 32 niños más; durante el primer interperiodo ingresan 14 niños que se incorporan junto a otros 30 niños en el segundo periodo de estudio; en el segundo interperiodo se incorporan 21 niños más que entran en el estudio junto a otros 56 completando así el total de 176 niños estudiados. Uno de los niños permanece ingresado en la Unidad durante los tres periodos y adicionalmente 12 niños incorporados en el primer PVA permanecen en el segundo periodo mientras que nueve niños que ingresan en el 2º PVA siguen ingresados en el tercer PVA.

La mayoría de niños ingresados nacen en el hospital aunque, por las características de especialización del mismo, un gran porcentaje proceden de embarazos de riesgo seguidos en la Unidad de Alto Riesgo Obstétrico del centro. Además al tratarse de un centro de referencia también recibe niños de otros hospitales por su gravedad o bien para ser sometidos a procedimientos médico-quirúrgicos altamente específicos.

Los niños se identifican por un número asignado por la fecha de entrada en la UCIN y una letra que indica el box o boxes en los que son ingresados. El orden de aparición de los niños en el texto corresponde al orden de aparición de las colonizaciones durante todo el estudio.

INVESTIGACIÓN DE BACTERIAS MULTIRRESISTENTES

La investigación de la flora multirresistente y su relación con la infección se realizó mediante cultivos de muestras fecales para detectar los portadores y cultivos de las muestras clínicas cuando era pertinente según la clínica del paciente. Ocasionalmente por indicación del servicio de Medicina Preventiva (en paralelo a este estudio) se efectuaron cultivos fecales para la detección de portadores que también se consideraron en el estudio.

DETECCIÓN DE PORTADORES

Se efectuó mediante cultivos al ingreso a la UCIN y posteriormente mediante cortes de prevalencia con una periodicidad semanal (todos los martes) y al alta (Figura 7)

■

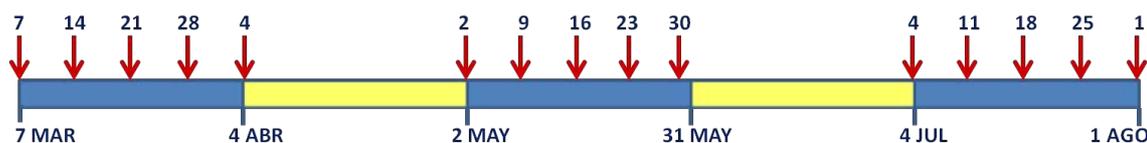


Figura 7: Plan general del trabajo.

Se muestra un esquema general del trabajo indicando los periodos de vigilancia activa (azul) y los interperiodos de vigilancia pasiva (amarillos). Las flechas indican el momento en el que se realiza la toma rectal y el cultivo. Los números corresponden al día del mes señalado.

En este esquema no se representan los cultivos realizados al ingreso o al alta de los pacientes

Una vez que abandonan la UCIN no se realizó búsqueda activa de BMR aunque si se siguieron clínicamente los niños hasta que fueron dados de alta del hospital. En este periodo postintensivos se guardaron los aislamientos de las bacterias multirresistentes detectadas, tanto en muestras clínicas indicadas por los médicos de la unidad para el estudio de posibles infecciones como en muestras de vigilancia, si los facultativos del servicio de Medicina Preventiva consideraron necesario su estudio por el contexto epidemiológico del paciente.

En el periodo de trabajo se previó incluir los brotes de infección nosocomial que se detectaran entre los periodos de vigilancia activa así como los aislamientos resultantes de estudios ambientales y/o de portadores derivados del estudio del brote.

MUESTRAS PARA LOS CULTIVOS DE VIGILANCIA O DE CONTROL DE PORTADORES

Las muestras tomadas para evaluar la colonización intestinal por microorganismos multirresistentes fueron frotis rectales (214) (ver más abajo en “Microorganismos investigados” la descripción de las cepas consideradas multirresistentes). Estas muestras se recogieron en un escobillón con un medio de transporte comercial adecuado (Amies).

Dada la complejidad y el volumen de trabajo que significaba este proyecto para plantearlo en términos posibilistas, decidimos limitar el estudio de la colonización a la flora intestinal.

MUESTRAS CLÍNICAS PARA LOS ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS

En los pacientes con signos o síntomas de infección se procedió a tomar las muestras pertinentes según los protocolos establecidos en el Servicio de Microbiología del Hospital Vall d’Hebron y los protocolos técnicos de la SEIMC (www.seimc.org). El cultivo, la identificación, el antibiograma y los estudios epidemiológicos de las muestras clínicas se realizaron con los mismos métodos descritos a continuación para las cepas multirresistentes aisladas en los estudios de control.

MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES INVESTIGADOS

Se estudió la presencia en la flora rectal de las siguientes bacterias multirresistentes (94,95,215) :

1. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.
2. *Enterococcus* resistente a vancomicina (EVR).
3. *Enterobacteriaceae* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).
4. *Enterobacteriaceae* hiperproductoras de cefamicinasas cromosómicas (AmpC).
5. *Enterobacteriaceae* productoras de cefamicinasas plasmídicas (AmpC).
6. *Enterobacteriaceae* productoras de carbapenemasas (CBP).
7. Bacilos gramnegativos no fermentadores con resistencia adquirida a más de tres familias de los antimicrobianos que usualmente se utilizan en el tratamiento.

1. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina :

Para el aislamiento de *S. aureus* se utilizó el agar manitol hipersalino (7,5% NaCl) (216) Para el cribado de las cepas resistentes a meticilina, se utilizaron placas de agar Mueller-Hinton suplementadas con NaCl al 4% y oxacilina a una concentración de 6 µg/ml (217).

2. Aislamiento de enterococos resistentes a vancomicina:

Para la detección de enterococos resistentes a vancomicina se inocularon las muestras directamente en un caldo de enriquecimiento con bilis ,esculina y azida sódica (BEA) y suplementado con 6 µg/mL de vancomicina y en paralelo el medio de BEA agar con la misma concentración de vancomicina (218). El caldo BEA se subcultivó en agar BEA tras 24 h de incubación.

3. Aislamiento de enterobacterias multirresistentes (BLEE, AmpC y CBP) y BGN-NF MR:

Para la detección de enterobacterias y BGN-NF multirresistentes (217) se usó el agar MacConkey suplementado con 1 µg / ml de cefotaxima.

Todos los medios referidos anteriormente se incubaron en atmósfera aerobia a 37 °C durante 48 h, con lectura a las 24, 48 y 72 h.

IDENTIFICACIÓN

La identificación presuntiva de las bacterias aisladas se basó en el crecimiento en los distintos medios de aislamiento selectivos, en el aspecto de las colonias, la tinción de Gram, las pruebas de la catalasa y la oxidasa y el tipo respiratorio.

Sólo se identificaron a nivel de especie aquellos aislados pertenecientes a los grupos señalados anteriormente y en los que se sospechaba multirresistencia.

Los diferentes grupos bacterianos establecidos presuntivamente por las pruebas indicadas se identificaron a nivel de especie mediante baterías metabólicas comerciales.

Se dispuso de pruebas proteómicas (MALDI-TOF) (219–221) o genómicas (16S RNA) para precisar la identificación (222–224).

Las series comerciales utilizadas para estafilococos fueron la tarjeta GPI de Vitek 2, complementada, en caso de necesidad, con el API Rapid ID32 Staph (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

Para identificar a los bacilos gramnegativos, se usó la tarjeta GNI de Vitek 2 y/o API 20E para las enterobacterias y 20NE para los bacilos gramnegativos no fermentadores de la glucosa (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

Para los enterococos se recurrió a la tarjeta GPI de Vitek 2 o al API Rapid ID32 STREP (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) (216).

ANTIBIOGRAMAS

La sensibilidad a antimicrobianos de las cepas aisladas se determinó mediante diferentes técnicas de antibiograma siguiendo las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (217). Las técnicas utilizadas fueron la de disco-difusión, difusión en gradiente y microdilución. Estas técnicas se complementaron mediante estudios enzimáticos específicos y determinación molecular de algunos genes de resistencia (Ver más abajo).

Técnica de disco-difusión.

En el método de disco-difusión se utilizó agar Mueller-Hinton (bioMérieux) y discos de nitrocelulosa Neo-Sensitabs™ (Rosco Diagnostica A/S, Denmark). El inóculo bacteriano se preparó a una concentración de 0,5 en la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ ufc/ml).

Los antibióticos utilizados se recogen en el Anexo 3.

Las placas se incubaron de 18-20 h a 37°C en atmósfera aerobia.

Esta técnica permitió clasificar a los aislados de forma cualitativa en sensibles, intermedios y resistentes a un determinado antimicrobiano.

Técnica difusión en gradiente

Se trata de una variante de la anterior que permite obtener resultados cuantitativos (CIM o concentración inhibitoria mínima). La preparación del inóculo y el medio de cultivo es igual que en la técnica de difusión, pero en este caso en lugar de discos se colocan unas tiras de plástico de 5 cm de largo por 5 cm de ancho que poseen un gradiente predefinido de concentraciones del antibiótico evaluado en $\mu\text{g/ml}$ y un código para identificar al antimicrobiano. Tras la incubación, si el microorganismo es sensible, se produce alrededor de la tira una zona de inhibición elipsoidal y simétrica. La CMI se lee a nivel del punto de intersección entre el borde de inhibición de la elipse y la tira con el antibiótico (Figura 8).

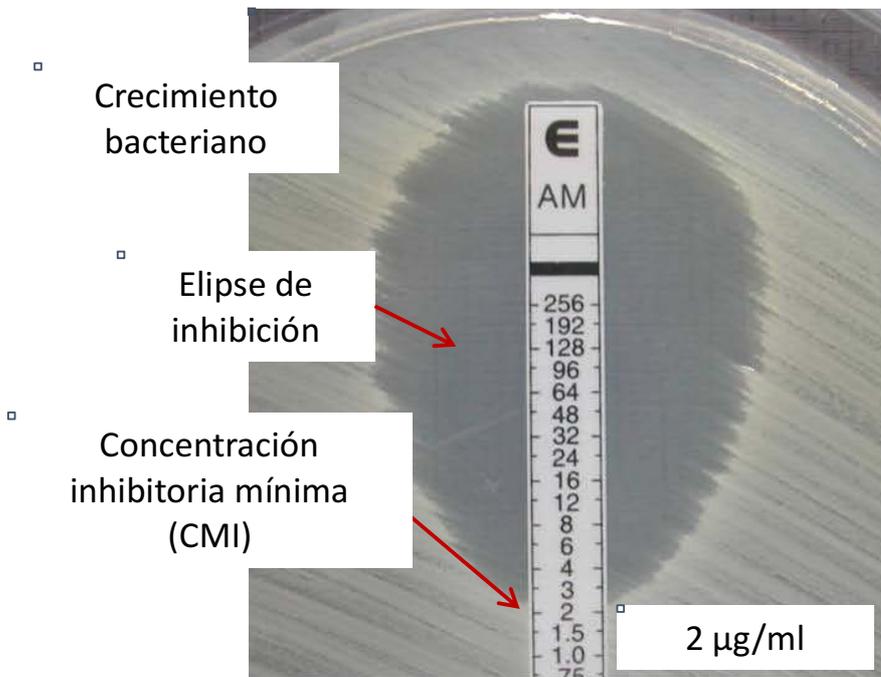


Figura 8: Técnica de difusión en gradiente.

Esta técnica se utilizó fundamentalmente para confirmar la presencia de resistencia a meticilina de *S. aureus*, mediante tiras de oxacilina (AB Biodisk, Solna, Sweden) en Mueller-Hinton agar suplementado con cloruro sódico al 4 % a partir de una suspensión con un standard de McFarland de 1 (concentración bacteriana de 3×10^8 ufc/ml).

Además, se usó para descartar la presencia de resistencia adquirida a glucopéptidos en *E. faecium* y *E. faecalis* utilizándose tiras de vancomicina y teicoplanina en Mueller-Hinton agar a partir de una suspensión con un estándar de McFarland de 0.5 (concentración bacteriana de 1.5×10^8 ufc/ml).

Técnica de microdilución

Cuando se consideró necesario confirmar los resultados del estudio de sensibilidad efectuado por la técnica de disco-difusión, se usó la técnica de microdilución. Se utilizaron paneles comercializados de MicroScan (Dade Behring Holdings Inc. Deerfield, Illinois, U.S.A.) en los que cada pocillo posee una concentración determinada de un antibiótico liofilizado, que se reconstituye al añadirle el caldo Mueller-Hinton en el que previamente se ha inoculado la bacteria. Se utilizan tantos pocillos por antibiótico como concentraciones son necesarias para poder determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del antibiótico estudiado (ver figura 9).

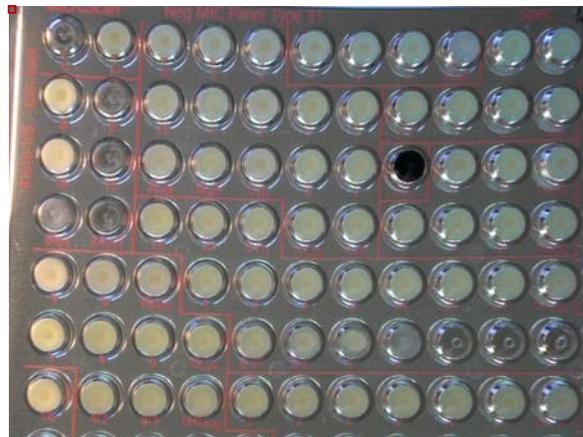


Figura 9: Panel de microdilución. Las líneas de separación indican la serie de pocillos destinada a cada antimicrobiano siguiendo una plantilla preestablecida. La CMI corresponde a la de la concentración del antibiótico del primer pocillo en el que no se observa crecimiento. El pocillo negro es un localizador de posición para la lectura automática.

Otras técnicas para el estudio fenotípico

1. *Técnica de doble difusión simple o modificada*: La presencia de una betalactamasa de espectro extendido (BLEE) se investigó mediante la técnica de doble difusión que estudia

la presencia o ausencia de sinergia entre ceftazidima, cefotaxima y aztreonam con amoxicilina-clavulánico y en el caso cepas con producción cromosómica de la betalactamasa AmpC, mediante la técnica modificada que incluye también cefepime (225).

2. Test de sinergia con discos combinados, en el que se usa una cefalosporina de tercera o cuarta generación sola (ceftazidima, cefotaxima y cefepime) y combinada con ácido clavulánico para la cual se disponen de discos y E-test con el antibiótico asociado a ácido clavulánico (AB Biodisk, Solna, Sweden)(226–228). Para ser considerado positivo la diferencia ha de ser igual o superior a 5 mm entre los halos de inhibición en torno a los discos simples y combinados con clavulánico.

3. Test tridimensional con cefoxitina (30 µg) (229,230) o método simplificado de CAM (231), que se usan en caso de sospecha de la presencia de una AmpC plasmídica.

4. Screening de carbapenemasas mediante E-test diferencial con imipenem y su combinación con un inhibidor específico de las metalobetalactamasas (EDTA) o discos con la misma composición o con ácido dipicolínico. Si la sospecha era de una carbapenemasa de clase A se utilizó ácido borónico. En estos casos se realizó también el test de Hodge modificado, usando ertapenem y meropenem y la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 (232); este test estudia la rectificación del halo de inhibición de una cepa sensible cuando la bacteria con la que se realiza la estría es capaz de degradar el ertapenem o el meropenem difundido en el medio y por tanto posee una carbapenemasa.

Véase la figura 10.

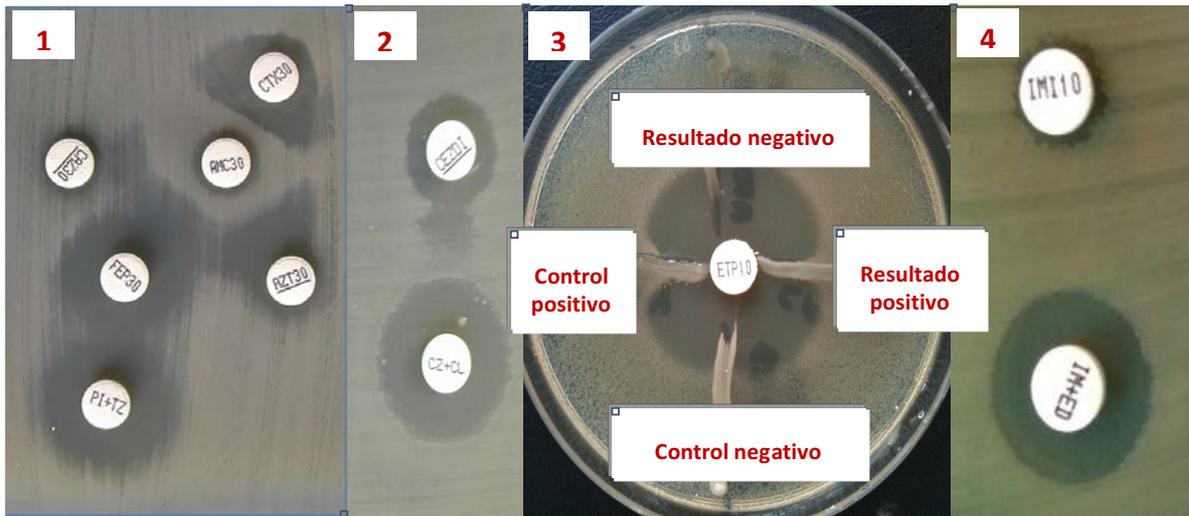


Figura 10: Técnicas complementarias de antibiograma. Véase la descripción en el texto.
 1. Técnica de doble difusión modificada; 2. Test de sinergia con discos combinados;
 3. Test de Hodge modificado y 4. Test diferencial con imipenem y su combinación con un inhibidor específico de las metalobetalactamasas (EDTA) .

Como cepas control de los estudios de sensibilidad se usaron las siguientes:

1. *Escherichia coli*: ATCC 25922.
2. *Escherichia coli*: ATCC 35218 -
3. *Pseudomonas aeruginosa*: ATCC 27853.
4. *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923.
5. *Enterococcus faecalis*: ATCC 29212.

Técnicas genómicas o estudios moleculares de los mecanismos de resistencia

1. Estafilococos:

PCR multiplex a tiempo real para la detección de los genes *nuc* (DNAsa termoestable) y *mecA* (resistencia a meticilina) en *S. aureus* (233).

2. Enterococos:

En *E. faecium* o *E. faecalis* u otras especies con resistencia plasmídica a los glucopéptidos, se realizó PCR para la detección de los diferentes fenotipos de Van A, B, E y G (234,235).

3. Enterobacterias:

Para la caracterización de betalactamasas y otros genes de resistencia se utilizaron técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de secuenciación con los cebadores específicos para cada familia (236–239):

BLEE: TEM, SHV, CTX-M-grupo 1, CTX-M-grupo 2 y CTX-M-grupo 9 (129,238,240–242)

AmpC: MOX-1, MOX-2, CMY-1, CMY-8 a CMY-11, LAT-1 a LAT-4, CMY-2 a CMY-7, BIL-1, DHA-1, DHA-2, ACC, MIR-1T, ACT-1, FOX-1 a FOX-5b(237)

CBP: VIM, IMP (168), NDM (243)

Se utilizaron los termocicladores Gene Amp® PCR System 2700 de Applied Biosystem y en cada reacción de amplificación se introdujo un control negativo para eliminar la posibilidad de contaminaciones y controles positivos para cada uno de los genes a estudio.

ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO-MOLECULAR DE LOS AISLADOS:

Las “relaciones clonales” de las cepas aisladas, tanto las de colonización como las causantes de patología, se determinaron mediante técnica de electroforesis en campo pulsado (PFGE) de los fragmentos de restricción del ADN total bacteriano, obtenidos mediante el enzima *Xba*I (Roche) en todos los casos excepto en *Stenotrophomonas maltophilia* en que se usó *Spe*I (Roche) (244–246). Los moldes conteniendo el ADN bacteriano, se prepararon con agarosa SKG a una concentración del 1,2% (Seakem Gold Agarosa, Lonza)(247). El DNA genómico digerido con los enzimas de restricción, se hizo migrar en un gel de agarosa al 1% usando como tampón TBE al 0,5x a 14 °C. Se utilizó el sistema de electroforesis en campo pulsado CHEF-DR®II (BioRad). Cuando fue necesario repetir el proceso debido a la obtención de patrones no tipificables se añadió tiourea (Thiocarbamide; (NH₂)₂CS, Sigma-Aldrich®) a una concentración de 20 mg/ml. El tiempo de migración fue de 21 horas utilizando un voltaje de 6 V/cm, con un pulso inicial y final de 2,2 y 54,2 segundos, respectivamente según el protocolo estandarizado de PulseNet (<http://www.cdc.gov/pulsenet/>).

El gel se reveló con bromuro de etidio (1 mg/ml) (Sigma-Aldrich®), observado el perfil electroforético con luz UV. Las imágenes del gel fueron captadas por el sistema Gel Doc™ XR (Bio-Rad) (Figura 11). El análisis de los perfiles de macrorrestricción se realizó con el programa Gel Compar II de Bionumerics (Applied Maths, St-Martens-Latem, Bélgica) utilizando el índice estadístico de similitud de Dice, que se basa en el método de agrupamiento de pares no ponderados UPGMA (*unweighted pair group method using arithmetic averages*). Para la generación de los dendogramas se aceptó un valor de tolerancia de posición de 1,0%. La “relación clonal” se determinó por comparaciones de los perfiles de macrorrestricción de cada uno de los aislados estudiados. Así, la pertenencia de dos aislados a un mismo clon se definió en base a una similitud superior al 85% (246).

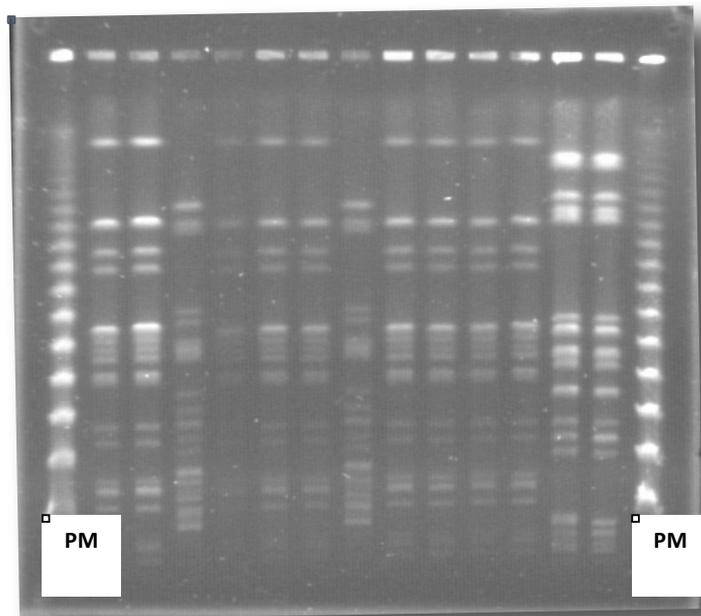


Figura 11: Electroforesis en campo pulsado.

Pueden observarse las diversas bandas formadas tras la digestión con el enzima de restricción seguida de la electroforesis tras pulsos eléctricos. Las bandas se desplazan desde el origen superior hacia abajo según su tamaño. El revelado se efectúa con bromuro de etidio. Las columnas señaladas como PM son marcadores del tamaño molecular de los fragmentos.

ARCHIVO DE CEPAS:

Este comprendía las cepas aisladas a partir de:

1. Frotis rectal en los estudios de colonización intestinal.
2. Estudio ambiental realizado el 19 de julio y de portadores realizados entre los periodos de vigilancia activa.
3. Muestras diferentes de los frotis rectales procedentes de los niños con infección.

Las cepas recogidas durante el periodo de estudio se conservaron por duplicado:

1. Uno de los viales en medio de glicerol y congelado a -70°C .

2. El otro en agar blando a temperatura ambiente. En este caso, si la cepa es portadora de un mecanismo de resistencia plasmídico, se conservaron en contacto con el antimicrobiano adecuado para evitar la pérdida del plásmido codificador de la resistencia.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Estudio descriptivo

Se describieron las variables mediante recuento y proporción si eran variables categóricas, y con la mediana y el rango (valor mínimo – valor máximo) en el caso de las variables continuas.

Análisis bivariado

Se analizó la relación entre la colonización por microorganismos multirresistentes y las características de los neonatos usando la prueba exacta de Fisher o la prueba U de Mann-Whitney, según la naturaleza de las variables independientes (características del neonato).

Se analizó la relación entre las características de los neonatos y las infecciones (por microorganismos multirresistentes, por otros microorganismos) y la ausencia de infección usando la prueba chi al cuadrado de homogeneidad o las diferencias entre medianas, según la naturaleza de las variables independientes (características del neonato).

Debido a las limitaciones en el tamaño muestral no se consideró adecuado el desarrollo de modelos de regresión logística multivariante.

Todos los análisis estadísticos se hicieron con los programas Stata 13.1 (College Station, Texas) o WINPEPI (250).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados y discusión de los mismos se exponen a continuación en función de los objetivos propuestos.

En el primer apartado se exponen los datos obtenidos del estudio de la población colonizada; el número y rendimiento de los cultivos realizados en las diversas muestras y la flora multirresistente intestinal colonizante detectada.

En el segundo se exponen los resultados del control temporal de la flora colonizante multirresistente.

En el tercer apartado se muestra la secuencia de la colonización en función de la clonalidad bacteriana.

En el cuarto y último apartado se establece la relación entre la colonización y la enfermedad causada por las bacterias multirresistentes intestinales colonizantes.

APARTADO 1

DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN, DE LOS CULTIVOS Y DE LA FLORA MR INTESTINAL.

Este trabajo se ha realizado en el periodo comprendido entre el 7 marzo y el 1 agosto del año 2006 (148 días). El estudio se divide en tres periodos de vigilancia activa y dos interperiodos. La principal diferencia entre los periodos de vigilancia activa y los interperiodos radica en que, mientras en los primeros se efectúan controles microbiológicos que comprenden 1) un cultivo de un frotis rectal al ingreso, 2) cultivos semanales de frotis rectal y 3) un cultivo rectal de alta; en los interperiodos no se realiza ninguna intervención adicional a las asistenciales habituales de la unidad.

En ambos periodos se observa diariamente a los niños y se recogen las cepas multirresistentes aisladas tanto de los cultivos del protocolo como de muestras clínicas y de muestras de vigilancia indicadas dentro de la práctica habitual por el Servicio de Medicina Preventiva del hospital. Ver el esquema del plan de trabajo en la figura 7 del apartado de Material y métodos.

De los 179 niños estudiados se descartan dos (casos 56 y 146) porque sólo tienen cultivo de alta (ingresan en el primer interperiodo y permanecen en la unidad hasta el día 29 de abril y 1 de mayo respectivamente). De los niños que ingresaron durante los tres periodos de vigilancia activa se excluyó un niño de muy bajo peso porque su inestabilidad hemodinámica contraindicaba manipulaciones innecesarias. Por ello, finalmente, se evaluaron 176 niños.

Los periodos y niños incluidos en el estudio fueron los siguientes:

Primer periodo (marzo 2006: recogida de muestras del 7 de marzo al 4 de abril). Incluye 55 niños y dura 29 días. Once de estos niños permanecieron en la unidad en el siguiente periodo y uno permaneció ingresado a lo largo de los tres periodos.

Segundo periodo (mayo 2006: recogida de muestras del 2 al 31 de mayo). Incluye 44 niños nuevos. Nueve de estos niños permanecieron durante el tercer periodo.

Tercer periodo (julio 2006: recogida de muestras del 4 de julio al 1 de agosto) Incluye 77 niños nuevos.

Como se ha señalado, en el conjunto de los tres periodos se estudiaron prospectivamente 176 niños.

La mediana de duración de la estancia en UCIN es de 15 días con un rango que oscila entre 1 y 203 días de ingreso (5.033 días totales).

La mediana de días de seguimiento dentro del periodo de estudio es de 10 días con un rango que va desde 1 a 91 (3.097 días totales). Estos días incluyen los del interperiodo siempre que el niño ya hubiera sido incorporado al estudio y permanezca ingresado en la UCIN.

A lo largo de todo el estudio se procesaron en total 596 frotis rectales, en 203 de los cuales (34,1%) creció una o más bacterias multirresistentes. De las 203 muestras positivas se aislaron 276 cepas. De los 176 niños estudiados se detecta colonización en 80 (45,4%). Si a los cultivos reglados se suman los cultivos de vigilancia no reglados (rectales y de otras localizaciones; véase [tabla 7](#) donde se describen las localizaciones extrarectales) el número de microorganismos asciende a 410 y el de pacientes colonizados a 90 (51 %) en lugar de 80. Estos 10 niños adicionales se detectan por cultivo rectal no reglado (6 casos) y por cultivos de otras localizaciones (4 casos: muestras respiratorias, orina, exudados conjuntival y umbilical). [Tabla 7](#).

Al comparar los datos de los niños a los que se ha efectuado cultivo de los dos tipos, a pesar de la diferencia en el número de niños que disponen de un tipo de cultivo y otro (176 vs. 53) se observa que el porcentaje de niños colonizados detectados mediante cultivo esporádico es mayor, probablemente porque éstos son cultivos más dirigidos (niños que ingresan procedentes de otro centro o niños previamente colonizados o contactos de un niño colonizado) que los programados en los que no tiene que existir un criterio que justifique su realización. [Tabla 7](#).

Al agrupar a los niños según el periodo en el que entran en el estudio con el objeto de simplificar la exposición y al haberse desencadenado un brote en uno de los periodos no se compararán estadísticamente los datos de los distintos periodos de estudio entre sí. Desde el diseño del estudio, se decidió realizar tres periodos diferenciados de vigilancia activa separados entre sí por un interperiodo observacional, se asumió que estos se trataban de periodos independientes y no se estableció la comparación de

periodos como objetivo secundario de este trabajo, para minimizar el efecto de los cambios estacionales.

Tabla 7: Distribución de los niños estudiados, de los cultivos rectales practicados y de los microorganismos multirresistentes aislados.

Niños colonizados	Periodo de vigilancia activa (PVA)			Total
	PVA1	PVA2	PVA3	
Neonatos incluidos en el estudio	55	44	77	176
Nº de cultivos rectales reglados	226	162	208	596
Mediana (rango)*	3 (1-13)	3(1-10)	2 (1-6)	3 (1-13)
Nº de cultivos rectales positivos	70	52	79	201
Mediana (rango)*	2 (1-6)	2 (1-5)	2 (1-6)	2 (1-6)
Nº de microorganismos MR	83	68	125	276
Nº de niños colonizados	28 (50,9 %)	20 (45,4 %)	32 (41,5 %)	80 (45,4 %)
Nº de cultivos rectales esporádicos*	33	38	29	100
Mediana (rango)*	1, 5 (1-8)	1 (1-4)	2 (1-4)	2 (1-8)
Nº de cultivos rectales positivos	21 (63,6 %)	19 (50 %)	18 (62,1 %)	58 (58 %)
Nº de microorganismos MR	35	21	25	81
Nº de niños colonizados (niños no detectados por los cultivos programados)	11 (2) (20%)	13 (2) (29,5%)	8 (2) (10,4%)	32 (6) (18,2%)
Otros cultivos				
Nº de cultivos positivos	31	13	7	51
Nº de microorganismos MR	35	13	7	55
Nº niños colonizados (niños no detectados por los cultivos programados)	17 (3) (30,9 %)	7 (1) (15,9 %)	5 (0) (6,5 %)	29 (4) (16,5 %)
Nº total niños colonizados	33	23	34	90

*Datos expresados en forma de mediana de cultivos y rango. En la columna que resume los tres periodos (total) se señalan en rojo el número de niños que se han detectado por cada uno de los tres diferentes tipos de cultivo. Entre paréntesis se refieren el total de niños que se detectan sólo por ese tipo de muestra y no por los cultivos rectales programados en el estudio. Las colonizaciones extrarectales se detectan en muestras respiratorias (21 niños), muestra respiratoria y orina (3 niños), muestra respiratoria y ex. conjuntival (1 niño), orina y exudado cutáneo (1 niño), orina (1 niños), conjuntiva (1), frotis cutáneo umbilical (1 niño).

Bacterias colonizantes. En el estudio se han detectado doce especies de BMR. Como puede verse en la tabla 8, la especie que coloniza con mayor frecuencia es *Klebsiella pneumoniae* seguida de *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, y *Citrobacter freundii* que

colonizan a 83 de los 90 niños detectados (92,2 %). A distancia aparecen como colonizantes el resto de especies (*Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter braakii* y *Acinetobacter baumannii*). Merece la pena destacar que todas las especies detectadas excepto *Serratia marcescens* poseen algún tipo de mecanismo adquirido que las incluye dentro del concepto de multirresistencia que hemos establecido. Todas presentan resistencia a la cefotaxima, que ha sido el antimicrobiano utilizado como elemento selectivo para el aislamiento de estas cepas. Las cepas aisladas de *Serratia marcescens* no presentaron una resistencia diferente a la de las cepas salvajes de su especie, pero se describen igualmente por su papel histórico como productor de infección nosocomial en las Unidades de Neonatos, esto quiere decir que el medio de cultivo no es el medio idóneo para su aislamiento y existe por tanto un sesgo de selección al respecto que hace que sólo se haya detectado una cepa a nivel rectal y que las cepas descritas sean de origen respiratorio o conjuntival, ya que en esas localizaciones no se usan medios selectivos para el cultivo de la muestra.

Tabla 8: Especies colonizantes, tipo de muestra y niños.

Espece bacteriana MR	Cultivo rectal reglado	Cultivo rectal esporádico	Colonización extrarectal	Total de niños colonizados*
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	42	23	20	57 (63,3 %)
<i>Enterobacter cloacae</i>	29	8	4	32 (35,5 %)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	12	4	3	14 (15,5 %)
<i>Citrobacter freundii</i>	11	2	0	13 (14,4 %)
<i>Escherichia coli</i>	6	3	1	8 (8,9 %)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	0	0	3 (3,3 %)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	0	1	2 (2,2 %)
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	2	3 (3,3 %)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0	0	1 (1,1 %)
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0	0	1 (1,1 %)
<i>Citrobacter braakii</i>	0	1	0	1 (1,1 %)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	0	0	1 (1,1 %)

*El porcentaje de niños colonizados se calcula con respecto a los 90 niños detectados con colonización rectal.

Dada la dificultad de prever la trascendencia clínica de este tipo de colonización se expone a continuación la prevalencia de estas especies como causantes de bacteriemia y/ o sepsis; tomando como referencia algunas series próximas desde el punto de vista epidemiológico como la publicada por el Grupo Castrillo, del que forma parte la UCIN del Hospital Vall d'Hebron, o la serie del Hospital Sant Joan de Déu. De estas series hemos obviado los microorganismos cuya puerta de entrada es el catéter con objeto de hacerlas comparables con la nuestra. Según esos datos sólo *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae* tendrían un papel relevante causando entre un 5-10% de estos cuadros según la serie (Tabla 9).

Tabla 9: Distribución de las especies causantes de bacteriemia nosocomial.

Especie bacteriana	Sepsis nosocomial NN ¹ (%)	Bacteriemia UCIN ² (%)	Bacteriemia de catéter adulto ³ (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7*	-	10,1
<i>Enterobacter cloacae</i>	3,8*	7,5±	3,2
<i>Escherichia coli</i>	7,8	3,7	1,6
<i>Serratia marcescens</i>	1,9*	-	1,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,8*	-	5,5
<i>Enterococcus</i> sp.,	7,7	3,7	5,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,2	1,8	27,2

NN: Neonatos; EPCN: Estafilococos plasmocoagulasa negativa.

¹Grupo de Hospitales Castrillo (1996-7). Análisis epidemiológico de la sepsis neonatal de transmisión nosocomial. Disponible en: <http://sen.onmedic.net/Portals/0/Sepsis%20Nosocomial.pdf>. Las especies señaladas con un asterisco sólo se identifican a nivel de género (249).

²H. S. Joan de Déu (2000). Urrea Ayala M, et al. Journal of Infection. 2007 Mar;54(3):212–20. Aporta datos de *Enterobacter* sp. en UCIN (10).

³Programa de Vigilància de les Infeccions Nosocomials als Hospitals de Catalunya. (Programa VINCAt) Informe 2014. Disponible en: <http://vincat.gencat.cat/>

APARTADO 2:

CONTROL PROSPECTIVO DE LA FLORA MR INTESTINAL. RELACIONES TEMPORALES ENTRE LOS NIÑOS COLONIZADOS.

Durante los cinco meses del estudio, se constató que 80 de los 176 niños evaluados estaban colonizados por una BMR, lo que significa el 45,4% de los mismos. Estas colonizaciones se produjeron tras una estancia en la UCIN que oscilaba entre 1 y 203 días con una mediana de 42 días. El periodo libre de colonización desde que el niño se incluye en el estudio hasta que se detecta la colonización osciló entre 0 y 64 días, siendo la mediana de 7 días. La duración de la colonización, según el protocolo de seguimiento, osciló entre 1 y 66 días, con una mediana de 7 días. Esto implica que, teniendo en cuenta que el seguimiento medio fue de 18 días, el niño está colonizado alrededor de la mitad del tiempo en que es sometido a vigilancia. Tabla 10.

Tabla 10: Características de los niños con colonización rectal detectada mediante los cultivos programados.

Características	Período de vigilancia activa (PVA)			Total
	PVA1	PVA2	PVA3	
Niños estudiados	55	44	77	176
Niños colonizados	28	20	32	80
Edad al inicio del estudio (días)*	15,5 (0-164)	4 (0-34)	2 (0-90)	7 (0-164)
Estancia en UCI (días)*	53 (6-203)	48 (1-131)	26 (2-73)	42 (1-203)
Duración del seguimiento (días)*	35,5 (1-86)	42,5 (1-91)	14 (1-28)	18 (1-91)
Periodo libre de colonización (días)*	18 (0-64)	11 (0-63)	2 (0-19)	7 (0-64)
Duración de la colonización (días)*	7 (1-58)	11 (1-66)	8 (1-28)	7 (1-66)
Densidad de incidencia (DI) de colonizaciones (x100 estancias libres de colonización)	3,0	2,9	8,5	4,0

*Datos expresados en forma de mediana de días y rango.

Periodo libre de colonización: días desde que el niño entra en el estudio hasta que se detecta la colonización.

DI = (nº niños colonizados / días de seguimiento de toda la cohorte de ese mes (colonizados y no colonizados))x100
Urrea Ayala M, et al. aportan una DI de 1,6 x 100 pac. / día de infección nosocomial en el año 2000 en el H. S. Joan de Dèu pero no aportan datos de colonización (10). En otros países como Brasil, Pessoa-Silva y colaboradores dan cifras similares (3.8 x 100 pac. / día de colonización) durante un brote por *K. pneumoniae* BLEE(250).

Los 96 niños en los que no se detectó colonización mediante las muestras rectales programadas representaban el 54,6% del total. Su estancia en la UCIN osciló entre 1 y 112 días con una mediana de 6 días. Tabla 11.

Tabla 11: Características de los niños sin colonización rectal (cultivos programados).

Características	Periodo de vigilancia activa (PVA)			Total
	PVA1	PVA2	PVA3	
Niños estudiados	55	44	77	176
Niños no colonizados	27	24	45	96
Edad al inicio del estudio (días) *	0 (0-90)	0 (0-27)	0 (0-32)	0 (0-90)
Estancia en UCI (días)*	7 (1-96)	6,5 (1-60)	4 (1-112)	6 (1-112)
Duración del seguimiento (días)*	7 (1-62)	6,5 (1-38)	3 (1-28)	4,5 (1-62)

*Datos expresados en forma de mediana de días para cada niño y rango.

Cuando se comparan parámetros como la estancia o la edad al inicio del estudio en ambos grupos se observan diferencias estadísticamente significativas. Tabla 12.

Tabla 12: Comparación de los niños con y sin colonización rectal (cultivos programados).

Características	Niños colonizados	Niños no colonizados	p
Niños estudiados	80	96	
Edad al inicio del estudio*	7 (0-164)	0 (0-90)	0.01
Estancia en UCI (días)*	42 (1-203)	6 (1-112)	<0.01
Duración del seguimiento (días)*	18 (1-91)	4.5 (1-62)	<0.01

*Datos expresados en forma de mediana de días para cada niño y rango.

Si se evalúa el número de microorganismos que colonizan los 80 niños se observa que en 58 (32,5 %) la colonización se debe a un solo microorganismo en tanto que en los 22 niños restantes (27,5 %) la colonización estaba producida por 2, 3 o 4 microorganismos. Según la secuencia de aparición del segundo y sucesivos microorganismos la colonización se clasifica como secuencial (un microorganismo da paso a otro), simultánea (en algún momento coexisten ambos microorganismos) o secuencial / simultánea (es a expensas de al menos 3 microorganismos y es la combinación de los dos subtipos anteriores). Así observamos colonización secuencial en 6 niños (7,5 %), simultánea en 13 niños (16,3%) y secuencial / simultánea en 3 niños (3,8 %).

Estos datos muestran que casi un tercio de los niños colonizados lo están por más de un microorganismo, lo que comporta la necesidad de tenerlo en cuenta en la evaluación de los cultivos y en la programación de éstos cuando se plantea un estudio de vigilancia activa.

Otro factor a tener en cuenta es la continuidad de los cultivos positivos ya que en 9 (5 colonizados por más de una especie multirresistente) de estos 80 niños (11,3 %) existe discontinuidad en el resultado de los cultivos, apareciendo cultivos que hemos valorado como falsamente negativos entre otros positivos al mismo clon. Este hecho podría cuestionar la utilidad de los cultivos de control en niños positivos ya que el número de cultivos rectales intermedios falsamente negativos oscila entre 1 y 5 (periodicidad semanal) sin que se observe una mayor tendencia a este fenómeno en una especie concreta. En 3 de estos 10 niños, con los criterios actuales (3 cultivos negativos), se hubiera suprimido el aislamiento. Tabla 13.

Tabla 13: Persistencia de la colonización. Niños con positividad intermitente en los cultivos seriados.

Niño	Especie/clon colonizante	Cultivos intermedios negativos	Cultivos positivos / cultivos totales*
25C	<i>K. pneumoniae</i> (Kpn VI)	5	4 / 9
63A-D	<i>E. cloacae</i> (Ecl IV)	1	2 / 3
64A-B-D-A	<i>K. pneumoniae</i> (Kpn I)	3	4 / 7
51E-D-B	<i>C. freundii</i> (Cfr III)	2	3 / 5
109UCIAs-D	<i>C. freundii</i> (Cfr V)	2	4 / 6
119UCIAs-F	<i>E. cloacae</i> (Ecl XXXI)	2	2 / 4
10F-A	<i>K. pneumoniae</i> (Kpn I)	1	4 / 5
20E	<i>E. cloacae</i> (Ecl V)	1	2 / 3
98E	<i>E. aerogenes</i> (Eae II)	1	3 / 4

*En el denominador se contemplan los cultivos totales desde que aparece el primer cultivo positivo.

En la Tabla 14 puede observarse la relación entre la especie bacteriana colonizante y la duración de la colonización en las 7 especies en que se detecta colonización rectal reglada en más de un niño.

Tabla 14: Correlación de la especie bacteriana colonizante y la duración de la colonización. Negativización de los cultivos seriados.

Especie bacteriana MR	Nº niños colonizados	Duración colonización Percentil 50 (Rango)	Evidencia de negativización
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	42	16 (1-254)	1 (2,4 %)
<i>Enterobacter cloacae</i>	29	10 (1-86)	12 (41,4 %)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	12	11 (1-32)	3 (25 %)
<i>Citrobacter freundii</i>	11	4 (1-30)	2 (18,2 %)
<i>Escherichia coli</i>	6	6 (1-14)	2 (33,3 %)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	7 (2-8)	2 (66,6 %)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	12 (7-17)	1 (50 %)

Al evaluar la posibilidad de detectar la negativización según el protocolo que hemos aplicado puede observarse que, para los 5 primeros microorganismos (6 o más niños colonizados), la evidencia de negativización varía entre el 2,4 % (1 de 42 niños) y 41,4 % (12 de 29 niños) de lo que se deduce que en la mayoría de los niños los cultivos reglados no permitieron en esta serie detectar la negativización. Si no tenemos en cuenta la especie sino la colonización por una bacteria considerada multirresistente 72 de los 80 niños (90 %) en los que se detecta colonización reglada permanecerían colonizados al alta o a la finalización del periodo de vigilancia activa. A esto hay que añadir que, como ya se ha referido, en 9 niños la secuencia de cultivos realizados comprende cultivos intermedios negativos que posteriormente se comprueba que no reflejan una negativización real ya que persiste el mismo clon colonizante y que en alguno de los niños puede objetivarse un largo periodo de colonización (hasta 254 días en uno de los niños colonizados por *K. pneumoniae*). Por todo esto consideramos que una vez detectada la colonización deben adoptarse las medidas que se hayan programado pero no resulta eficiente proseguir los cultivos de vigilancia reglada. En la [tabla 15](#) se detallan las características de los 21 niños (26,3 %) en los que el diseño del estudio permite evidenciar negativización de la colonización (2 de los niños presentaban colonizaciones mixtas y negativizaron ambas). En algo más de la mitad de estos niños (11 de 21) la negativización de los cultivos se sigue de un reemplazo por otro clon bacteriano de la misma u otra especie.

Tabla 15: Características de los veintiún niños en los que se objetiva la negativización.

Niño	Clon	Duración de la colonización (días)	Nº cultivos reglados negativos	Días de seguimiento desde la neg.	Reemplazo con otro clon
164D	Kpn I	1	2	8	No
1E·F	Ecl VIII	8	6	28	Kpn I
5D	Ecl XVII	1	1	1	No
16E	Ecl II	7	2	2	No
38D	Ecl IX	1	5	84	Kpn I
49E	Ecl IV	6	1	1	Kpn I
51E·D·B	Ecl X-XII ¹	7	2	9	Cfr III
63A·D	Ecl IV	2	3	49	No
64A·B·D·A	Ecl IV	7	6	63	Kpn I
73C	Ecl IV	2	1	1	No
98E	Ecl XX	16	1	1	Eae II
101B·C	Ecl XXIII-XXVIII ²	49	3	15	Eae IV
115C	Ecl XXX	7	4	21	No
83F·A	Eae I	7	2	38	No
102E	Eae II	16	1	1	Kpn I
103E	Eae V	16	1	1	Kpn I
1E·F	Cfr I	8	6	28	Kpn I
10F·A	Cfr II	1	5	52	Kpn I
9F	Eco I	6	1	1	No
101B·C	Eco II	49	3	15	Eae IV
69F·A·B	Smp II	7	3	14	Kpn I
133A	Smp III	3	1	1	No
7A	Kox I	6	3	15	No

Kpn: K. pneumoniae, Ecl: E. cloacae, Eae: E. aerogenes, Cfr: C. freundii, Eco: E. coli, Smp: S. maltophilia, Kox: K. oxytoca. Existe reemplazo por otro clon en once de los veintiún niños. ¹El clon Ecl XII reemplaza al X y XI que coexisten en la misma muestra y este a su vez es reemplazado por *C. freundii* clon Cfr III. ²El clon Ecl XXIV coexiste con el XXIII en la misma muestra pero es reemplazado posteriormente por el clon XXV-XXVII que a su vez son reemplazados por el clon Ecl XXVIII y este por el clon Eae IV de *E. aerogenes*.

APARTADO 3:

DETECCIÓN SECUENCIAL DE LA COLONIZACIÓN. DINÁMICA DE LA TRANSMISIÓN DE LAS CEPAS EPIDÉMICAS.

Para evaluar los datos de este apartado cabe señalar que la Unidad de Cuidados Intensivos neonatales del Hospital Universitario Vall d'Hebron está compartimentada en boxes; algunos de ellos comunicados por una puerta (ver Figura 6 en el apartado de Material y métodos) por lo que no constituyen unidades individuales de aislamiento. Por otra parte el personal, sobre todo el médico, es compartido por los distintos boxes así como la enfermería que ocasionalmente puede trabajar en otro box contiguo al propio para ayudar en momentos puntuales.

Proceso de colonización

A continuación se describe la secuencia de aparición de las bacterias multirresistentes a lo largo del estudio, que se representa en las figuras 12 a 14.

En el primer periodo (Figura 12) que se extiende desde el 7 de marzo al 4 de abril, hubo 55 niños ingresados en los seis boxes de la Unidad.

A los 23 niños que estaban al inicio del estudio y a los 32 niños que ingresaron posteriormente se les efectuaron los estudios regulares previstos en las fechas: 7, 14, 21, 28 de marzo y 4 de abril. Además a estos niños también se les realiza, si procede, cultivo de ingreso y de alta.

En el primer corte programado de este periodo de vigilancia activa (PVA) se detectan 3 niños colonizados, 2 por *Enterobacter cloacae* y 1 por *Pseudomonas aeruginosa*.

El día 9 de marzo, antes del siguiente corte, se detecta colonización por *E. cloacae* en otro niño en el cultivo de alta.

En el segundo corte se detectan 4 niños adicionales colonizados por 4 especies (*Klebsiella oxytoca*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *E. cloacae* y *Escherichia coli*)

Entre el segundo y el tercer corte, el 17 de marzo, se detecta colonización en un nuevo niño por *E. coli* multirresistente.

En el tercer corte se detectan 2 niños más colonizados por *E. cloacae*.

En el intervalo previo al siguiente corte se detecta un nuevo niño colonizado por *E. cloacae* mediante el cultivo de alta.

En el cuarto corte se detectan 2 niños nuevos colonizados por *E. cloacae* y uno de ellos además por *Citrobacter freundii*. En este corte se sigue detectando colonización por *E. cloacae* en otros 3 niños ya conocidos.

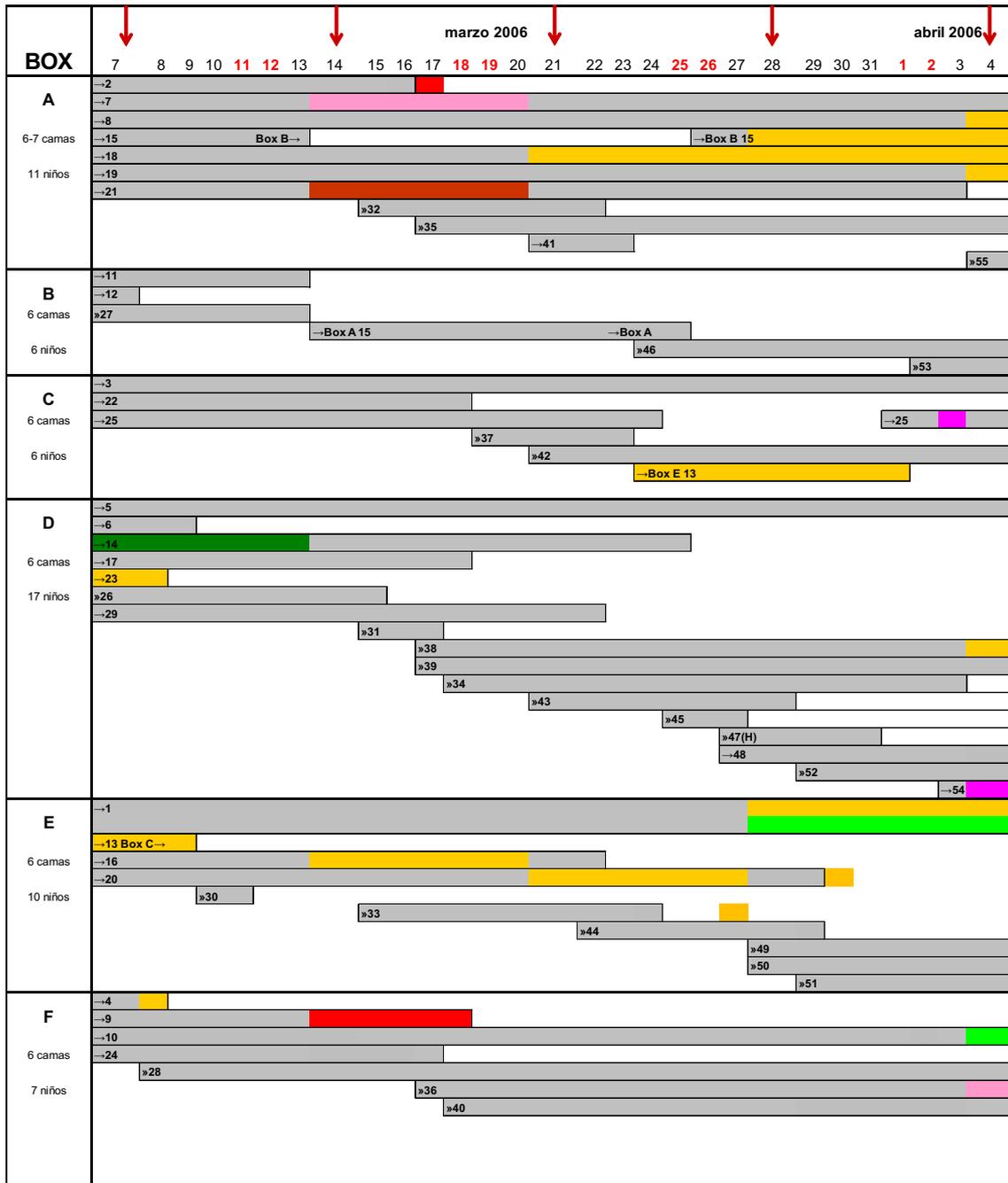
El día 3 de abril, un día antes del corte programado se detecta colonización por *K. pneumoniae* BLEE en el cultivo de ingreso de otro de los niños.

En el último corte aparecen 5 niños nuevos colonizados por *E. cloacae*, *C. freundii*, *K. oxytoca* y *K. pneumoniae* y persiste la colonización por *E. cloacae* en 4 niños más.

En resumen, el primer día del estudio se detectaron 3 niños colonizados, 2 por *Enterobacter cloacae* y 1 por *Pseudomonas aeruginosa*. A lo largo de todo el periodo se han detectado 20 niños colonizados por siete especies diferentes (11 por *E. cloacae*, 2 *C. freundii* -uno de los niños presentaba colonización por *C. freundii* y *E. cloacae*-, 2 por *E. coli*, 2 por *K. oxytoca*, 2 por *K. pneumoniae*, 1 por *S. maltophilia* y 1 por *P. aeruginosa*); El último día de este periodo había 9 niños colonizados debido a que cinco niños habían presentado negativización de los cultivos y los 11 niños restantes que inicialmente presentan colonización ya habían sido dados de alta.

Cabe destacar que en este primer periodo se introducen en la Unidad, 7 de las 12 BMR que se detectan a lo largo del estudio. Este dato es más significativo cuando se observa que son 6 de las 7 que darán lugar a más de un cultivo reglado positivo. Este aspecto posee gran interés como se comentará detalladamente más adelante.

Figura 12: Primer periodo de vigilancia activa (7 de marzo-4 abril)



■ *P. aeruginosa*
■ *E. cloacae*
■ *K. oxytoca*
■ *S. maltophilia*
■ *E. coli*
■ *K. pneumoniae*
■ *C. freundii*

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Cada fila gris representa un niño ingresado que se identifica por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de un microorganismo multiresistente colonizante en el tubo digestivo. Cuando el niño está colonizado todo el tiempo no se visualiza el color gris sino el de la bacteria colonizante. Cada color representa una especie bacteriana diferente.

El segundo PVA comprende desde el 2 al 31 de mayo del año 2006 (Figura 13). Se investiga la presencia de cepas multirresistentes en 56 niños (12 ya incluidos en el estudio en el periodo previo). Para el estudio se siguió el protocolo programado (cultivos de ingreso y de alta y cortes regulares los días 2, 9, 16, 23 y 30 mayo).

En el primer corte programado de este periodo de vigilancia activa (PVA) se detectan 7 niños colonizados (6 por *K. pneumoniae*, uno de ellos también por *E. cloacae* y el niño restante por *C. freundii*). Cinco de estos 7 niños se habían incorporado al estudio en el primer PVA habiendo presentado colonización 2 de ellos, pero por otras especies bacterianas multirresistentes. Entre este y el segundo corte, el día 3 de mayo se detecta colonización por *E. cloacae* multirresistente mediante el cultivo de ingreso en un niño y por *K. pneumoniae* BLEE en el cultivo de alta de otro.

En el segundo corte se detectan 3 niños adicionales (2 colonizados por *E. cloacae* y 1 por *K. pneumoniae*) y un niño conocido pero que en este corte presenta una nueva especie colonizante (*C. freundii*). Persiste la colonización por *K. pneumoniae* en 4 de los 7 niños detectados en el primer corte. Uno de los niños nuevos se había incorporado al estudio en el primer PVA no habiendo presentado colonización hasta este momento. Este mismo día, a través del cultivo de alta se detecta colonización por *E. cloacae* multirresistente en un niño previamente colonizado por *C. freundii*. Antes de llegar al tercer corte, el día 11 de mayo, se detecta otro niño más colonizado por *K. pneumoniae* BLEE mediante el cultivo de alta.

En el tercer corte se detectan 2 niños más colonizados por *K. pneumoniae* y 1 de ellos también por *E. cloacae*. Ambos niños se habían incorporado al estudio en el primer PVA por lo que la colonización del niño colonizado únicamente por *K. pneumoniae* ya era conocida. Persiste la colonización por *K. pneumoniae* en 3 niños, *E. cloacae* en un niño y *C. freundii* en otro de los niños referidos ya previamente. Entre este corte y el siguiente se detecta por primera vez colonización por *E. cloacae* el 22 de mayo mediante el cultivo de alta de uno de los niños que permanecía ingresado desde el inicio del periodo sin que se hubiese detectado colonización.

En el cuarto corte se detectan 2 niños nuevos colonizados por *K. pneumoniae* y *E. cloacae* respectivamente. El primer niño procedía del primer PVA habiendo presentado colonización simultánea por 2 especies distintas a la actual. Siete niños

siguen presentado colonización (4 por *K. pneumoniae*, 1 por *K. pneumoniae* y *C. freundii* simultáneamente, otro por *E. cloacae* y el último por *C. freundii*).

Figura 13: Segundo periodo de vigilancia activa (2-31 mayo).



■ *K. pneumoniae*
 ■ *E. cloacae*
 ■ *C. freundii*
 ■ *E. aerogenes*

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados

Cada fila gris representa un niño ingresado que se identifica por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de un microorganismo multiresistente colonizante en el tubo digestivo. Cuando el niño está colonizado todo el tiempo no se visualiza el color gris sino el de la bacteria colonizante. Cada color representa una especie bacteriana diferente.

Antes de alcanzar el último corte aparece colonización por *K. pneumoniae* BLEE, el 26 de mayo, en el cultivo de reingreso de un niño que había estado ingresado en la UCIN en el primer PVA. Adicionalmente, el día 29 de mayo se detectan 2 niños nuevos mediante el cultivo de alta, uno colonizado por *K. pneumoniae* BLEE y otro por *C. freundii* con hiperproducción de AmpC.

En el último corte aparecen 4 niños nuevos colonizados 3 de ellos por *E. cloacae* y el restante por *K. pneumoniae*. Persiste la colonización por *K. pneumoniae* en 5 de los niños ya conocidos y por *E. cloacae* en otro niños más.

El último día de este periodo aún se detecta un nuevo niño colonizado por *K. pneumoniae* BLEE mediante un cultivo de reingreso.

En este periodo se detectan 7 niños colonizados el primer día del estudio. En total se han detectado 25 niños colonizados por 4 especies diferentes (15 por *K. pneumoniae*, 9 por *E. cloacae*, 3 por *C. freundii* y 2 por *E. aerogenes*- 4 niños presentaban colonización mixta por dos microorganismos-), 21 de los cuales eran niños nuevos o cuya colonización no se conocía previamente. En el último día de este periodo había 10 niños colonizados.

El tercer periodo de vigilancia activa (Figuras 14 y 15) va desde el 4 de julio al 1 de agosto del año 2006. Se investiga la presencia de cepas multirresistentes en los 87 niños que estuvieron en los 6 boxes de la Unidad durante ese periodo, 10 de ellos ya incluidos en el estudio en periodos de vigilancia previa. En los 31 niños que ya estaban ingresados al inicio de este periodo y los 56 niños que ingresaron posteriormente al día de inicio del estudio, se siguió el protocolo programado (cultivos de ingreso y de alta y cortes regulares los días 4, 11, 18 y 25 de julio y 1 de agosto).

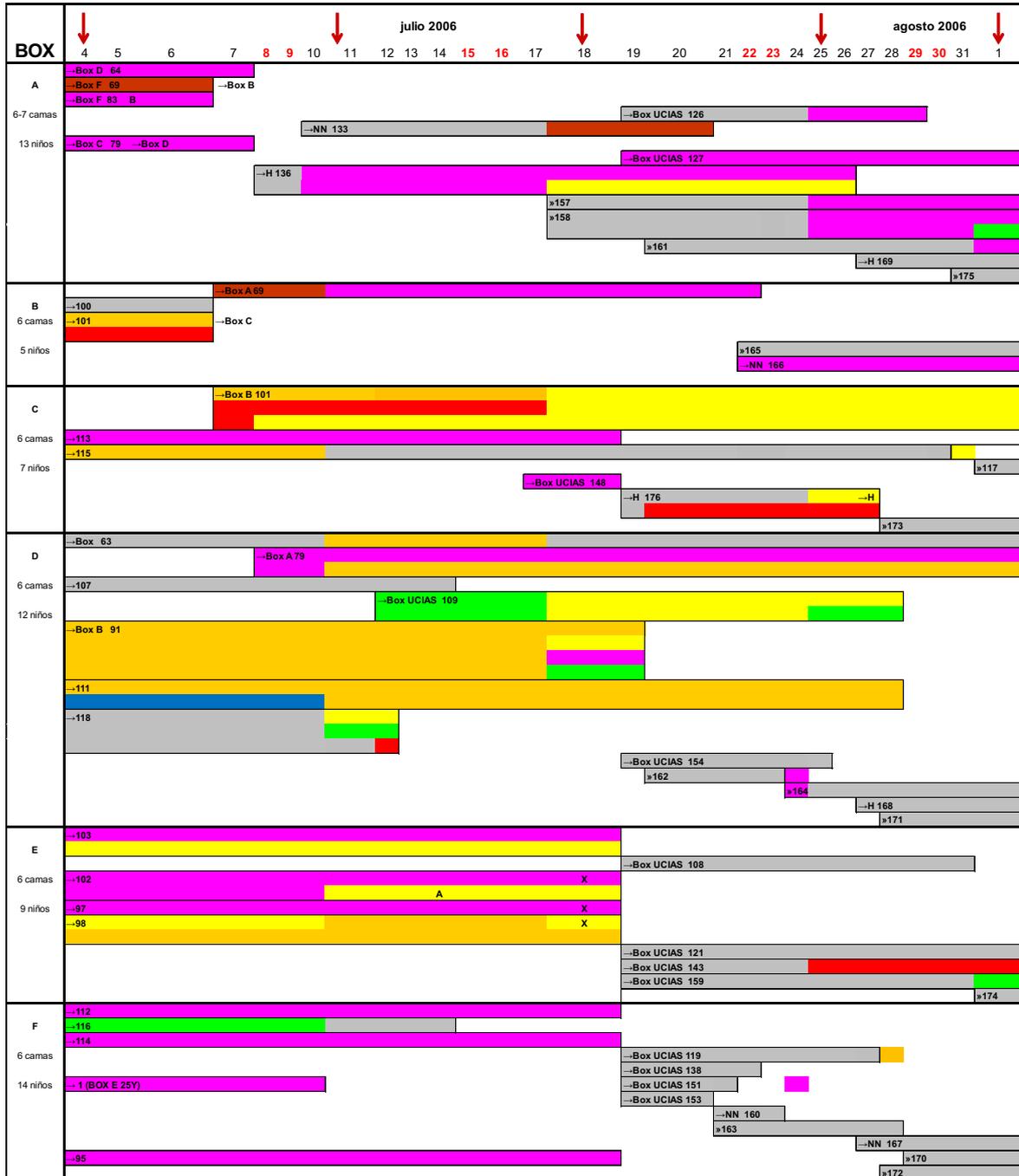
La rapidez de la difusión de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* BLEE asociada a la colonización por otros multirresistentes como *E. cloacae*, *C. freundii* y *E. aerogenes* con hiperproducción de AmpC, obliga a tomar medidas específicas para tratar de contener el brote. Una de ellas, consiste en habilitar el día 14 de junio (a mediados del segundo IP), 2 boxes adicionales en Urgencias, para proteger a los niños nuevos que ingresan, que llegan a estar ocupados por 21 niños (Figura 15).

En el primer corte programado de este tercer PVA se detectan 20 niños colonizados (11 por *K. pneumoniae*, 6 por *E. cloacae*, 2 por *E. aerogenes*, 2 por *C. freundii* y 1 por *E. coli*, *S. marcescens*, *A. baumannii* y *S. maltophilia*; apareciendo simultáneamente colonización por 2 microorganismos en 5 de estos niños). 9 de estos 20 niños se habían incorporado al estudio en periodos previos (uno de ellos ya en el primer PVA) habiendo presentado colonización por multirresistentes 3 de ellos, uno por otra especie bacteriana.

Antes de realizar el segundo corte, el 10 de julio, se detecta por primera vez colonización por *K. pneumoniae* BLEE mediante el cultivo de ingreso en dos niños y el cultivo de alta en otros dos niños más. Ese mismo día se detecta en otro niño, también mediante el cultivo de ingreso colonización por *P. vulgaris* productor de BLEE.

En el segundo corte se detectan seis niños nuevos, dos colonizados por *K. pneumoniae*, uno por *E. cloacae*, uno por *E. aerogenes*, uno por *P. vulgaris* y el último con colonización mixta por *C. freundii* y *E. aerogenes* y trece niños conocidos, cuatros de ellos que en este corte presenta colonización por nuevas especies (*K. pneumoniae*, *E. cloacae* y *E. aerogenes*, este último como nuevo colonizante en dos pacientes). Persiste la colonización por *K. pneumoniae* en ocho de los trece niños detectados en el primer corte, por *E. cloacae* en cuatro de los niños, por *E. aerogenes* en dos de ellos y por *E. coli* en otro; tres de estos niños mantienen su doble colonización en este corte pasando a ser triple en uno de ellos y doble en dos niños que en el primer corte sólo presentaban colonización por una especie bacteriana. Uno de los niños nuevos se había incorporado al estudio en el segundo PVA y ya había presentado colonización por el mismo clon de *E. cloacae* a pesar de que este no se detecta en el primer corte de prevalencia.

Figura 14: Tercer periodo de vigilancia activa (4 julio-1 agosto).

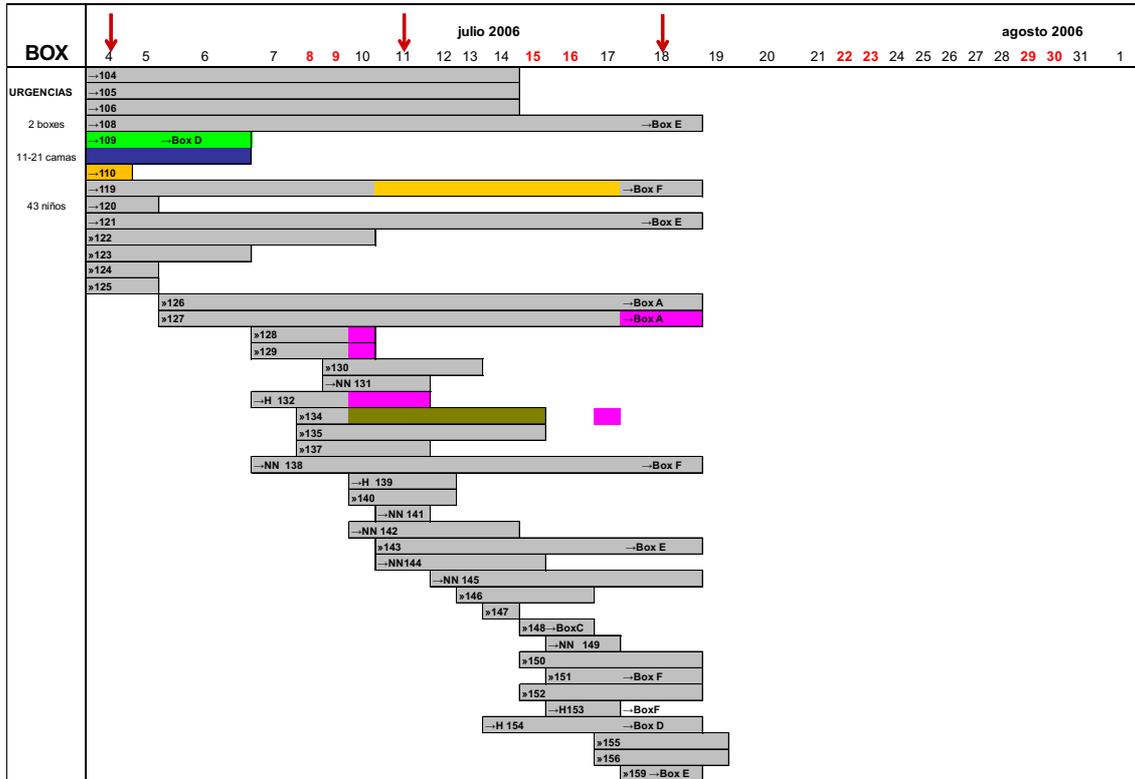


■ *K. pneumoniae*
■ *E. cloacae*
■ *E. aerogenes*
■ *C. freundii*
■ *E. coli*
■ BGNMF

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Cada fila gris representa un niño ingresado que se identifica por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de un microorganismo multirresistente colonizante en el tubo digestivo. Cuando el niño está colonizado todo el tiempo no se visualiza el color gris sino el de la bacteria colonizante. Cada color representa una especie bacteriana diferente.

Figura 15: Tercer periodo de vigilancia activa (4 julio-1 agosto), box desdoblado ubicado en Urgencias para nuevos ingresos.



■ *C. freundii*
 ■ *S. marcescens*
 ■ *E. cloacae*
 ■ *K. pneumoniae*
 ■ *P. vulgaris*

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Las flechas indican el momento en que se realizan los cinco cultivos reglados

Cada fila gris representa un niño ingresado que se identifica por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de un microorganismo multiresistente colonizante en el tubo digestivo. Cuando el niño está colonizado todo el tiempo no se visualiza el color gris sino el de la bacteria colonizante. Cada color representa una especie bacteriana diferente.

Al día siguiente del segundo corte, el doce de julio, se detecta colonización por *E. coli* BLEE en el cultivo de alta de un niño hasta ese momento colonizado por *C. freundii* y *E. aerogenes*. El víspera del tercer corte, el 17 de julio, en el cultivo de ingreso de un niño y en el cultivo de alta del niño colonizado por *P. vulgaris*, crece *K. pneumoniae* BLEE. En el tercer corte se detectan tres niños más, colonizados dos de ellos por *K. pneumoniae* y el tercero por *S. maltophilia*. Persiste la colonización en quince de los niños ya referidos previamente, reemplazándose la especie colonizante en uno de ellos (*E. aerogenes* sustituye a la colonización mixta por *C. freundii* y *S. marcescens*) y adquiriendo nuevas

especies otros dos niños (uno colonizado por *K. pneumoniae*, un *E. aerogenes* y otro ya colonizado por *E. cloacae*, un *E. aerogenes*, una *K. pneumoniae* y un *C. freundii* por lo que pasa a estar colonizado por cuatro microorganismos). Los doce niños restantes estaban colonizados en nueve casos por *K. pneumoniae*, cinco por *E. cloacae* y dos por *E. aerogenes* siendo la colonización mixta en cuatro de estos niños.

En la semana intermedia entre el tercer y cuarto corte, se detecta colonización por *E. coli* BLEE y *K. pneumoniae* BLEE el 19 de julio en sendos cultivos de ingreso de dos niños. El 24 de julio, esta vez en el cultivo de alta de dos niños, también crece *K. pneumoniae* BLEE por primera vez en esos niños.

En el cuarto corte se detectan seis niños nuevos colonizados, cuatro de ellos por *K. pneumoniae*, uno simultáneamente por *E. aerogenes* y *E. coli* y el último por *E. coli*. Seis niños más siguen presentando colonización (tres por *K. pneumoniae*, tres por *E. aerogenes*, dos por *E. cloacae* y uno por *C. freundii*; tres siguen presentando colonización simultánea por dos microorganismos).

Por último, a un día de cerrar el estudio, el 31 de julio, se detecta en el cultivo de alta de otro niño colonización por *E. aerogenes*.

En el último corte aparecen dos niños nuevos colonizados uno por *K. pneumoniae* y otro por *C. freundii*. En otros siete niños que continúan colonizados, uno de ellos colonizado por *K. pneumoniae* adquiere *C. freundii* y los otros seis continúan presentando *K. pneumoniae* en cuatro de los casos, y en un caso respectivamente *E. aerogenes*, *E. cloacae* y *E. coli*; uno de estos niños presentaba doble colonización).

Como se ha señalado anteriormente a partir del día 14 de junio (2º IP), se realizaron ingresos de manera preventiva en los boxes habilitados en urgencias, a pesar de lo cual al cabo de 15 días (al reiniciar la vigilancia activa) se detectó colonización en 9 de los 21 niños, 2 de los cuales eran portadores de la cepa epidémica de *K. pneumoniae* BLEE motivo de este desdoblamiento de la unidad.

Así, el primer día del estudio se detectan 20 niños colonizados. En total en este periodo se detectan 42 niños colonizados por nueve especies diferentes (28 *K. pneumoniae*, 10 *E. aerogenes*, 8 *E. cloacae*, 6 *C. freundii*, 4 *E. coli*, 2 *S. maltophilia*, 1 *S. marcescens*, 1 *P. vulgaris*, y 1 *A. baumannii*), treinta y nueve de los cuales eran niños nuevos o cuya

colonización no se conocía previamente. El último día se cierra el estudio con nueve niños colonizados.

Si tenemos en cuenta los tres periodos de vigilancia activa podemos observar la extraordinaria dinámica en el ingreso, movilidad y alta de los niños así como la circulación de numerosas especies multirresistentes durante ese periodo de tiempo, que se alternan y/o superponen.

De los 176 niños a los que se estudia habrían ingresado dentro del periodo de vigilancia 117 niños, seis de ellos en más de una ocasión. Treinta niños habrían sido trasladados de box, cinco de estos niños dos veces y se habrían ido de alta o han sido trasladados a otro centro 131 niños. Si tenemos en cuenta la estancia en la UCIN de estos niños independientemente del periodo de estudio, aproximadamente un tercio de los niños (34,7 %) permanecen ingresados en la unidad menos de una semana, otro tercio entre una semana y un treinta días (29,5 %) y el tercio restante (35,8 %) más de treinta días.

Hasta este punto de la descripción de los resultados no se ha hecho referencia a la secuencia de transmisión entre los niños de las bacterias MR. Esto no se ha hecho porque a pesar del abigarrado aspecto de las colonizaciones, como se observa por ejemplo en la figura 14, no se refleja la complejidad real que viene dada por el hecho de que cada especie no corresponde a un único clon sino a muy diversos clones y por ello no se puede establecer la secuencia de transmisión sin el estudio previo de la clonalidad.

La correlación entre el tiempo de seguimiento y de colonización se calculó mediante el coeficiente de Pearson, cuyo valor fue de + 0,7 lo que implica que a mayor duración del tiempo de seguimiento mayor riesgo de colonización del niño (Gráfico 1).

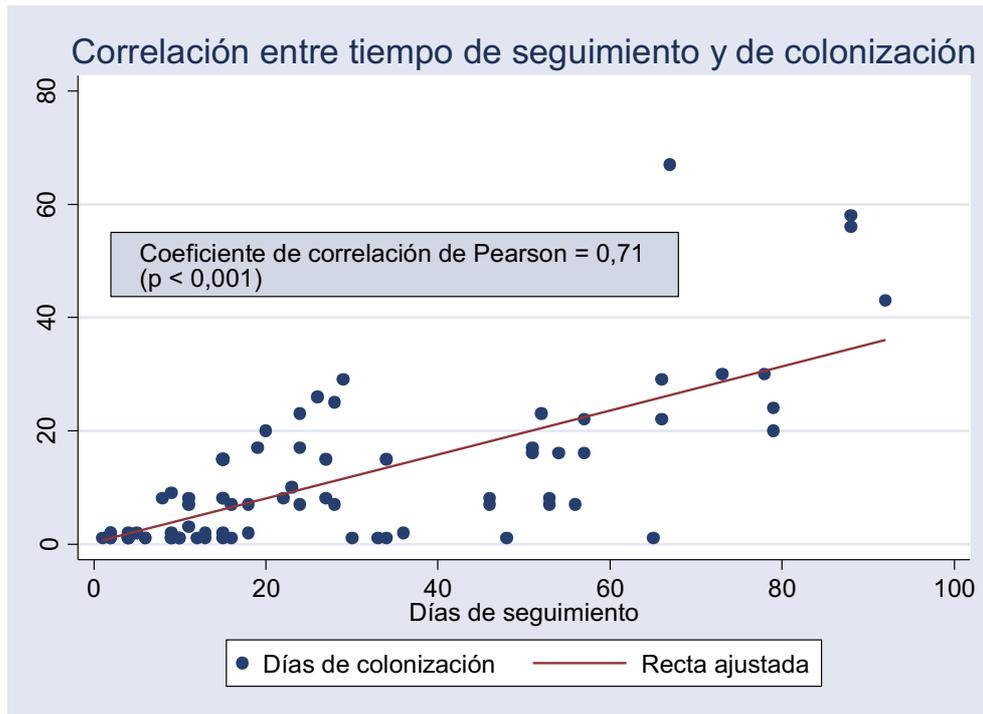


Gráfico 1: Correlación entre el tiempo de seguimiento en días en los diferentes periodos de estudio (eje de abscisas) y el número de niños colonizados (eje de ordenadas).

Se calculó la correlación entre el periodo libre de colonización y el número de niños colonizados con los que convive el niño a estudio durante esos días en la Unidad mediante la prueba *rho* de Spearman debido a que las variables a comparar no seguían una distribución normal. Se obtuvo también un coeficiente de Spearman de +0.7 que traduce, como en el caso anterior, que el periodo libre de colonización de cada niño se correlaciona directamente con el número de niños colonizados a los que está expuesto.

Asimismo puede observarse que se han detectado 12 especies bacterianas multirresistentes colonizantes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter braakii*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*) causando en 58 pacientes colonizaciones individuales pero en otros 22 colonizaciones múltiples con una persistencia variable. Teniendo en cuenta las limitaciones del estudio para determinar la duración real de las colonizaciones rectales debido a la alternancia de interperiodos entre los periodos de vigilancia activa, el 45 % (36 niños) de los niños colonizados presentarían colonización inferior a una semana, en muchos de ellos debido a que esta se detecta en el cultivo de alta.

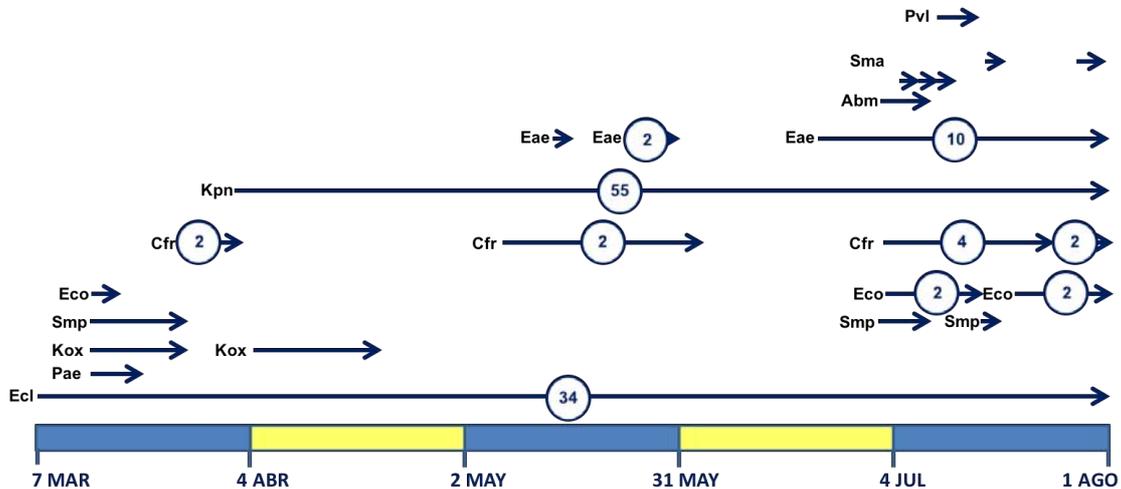
Intentado introducir el concepto de riesgo, si en lugar de con los niños colonizados con los que convive un determinado niño durante el periodo previo a su colonización intentamos establecer esta relación midiendo la suma del número de días en que cada niño coincide con otro niño colonizado por cualquiera de las especies a riesgo de colonizarlo hallamos una cifra de 24.248 días-niño a riesgo siendo la mediana de 87,5 días-niño (rango 2-734 días).

En las 11 especies detectadas se han identificado 51 clones colonizantes lo que añade complejidad al problema y clarifica la importancia de efectuar estudios epidemiológicos inmediatos o determinar una estrategia diferente

Durante el periodo de vigilancia se objetiva que trece de estos clones causan brotes epidémicos. Los restantes dan lugar a colonizaciones esporádicas algunas de breve duración lo que hace que no puedan detectarse según el protocolo utilizado y pueden llevar a confusión respecto a la existencia de un brote epidémico.

TRANSMISIBILIDAD CLONAL

Hasta ahora se ha descrito la colonización de los niños de la Unidad desde el punto de vista de las diferentes especies de bacterias multirresistentes que les han afectado.



Ecl: *E. cloacae*; Pae: *P. aeruginosa*; Kox: *K. oxytoca*; Smp: *S. maltophilia*; Eco: *E. coli*; Cfr: *C. freundii*; Kpn: *K. pneumoniae*;
Eae: *E. aerogenes*; Abm: *A. baumannii*; Sma: *S. marcescens*; Pvl: *P. vulgaris*.

Figura 16: Cronograma global de las especies colonizantes presentes durante el periodo de estudio.

La longitud de las barras está en relación a la duración al periodo de colonización conocido.

⁴ 2 La cifra de los círculos indica el número de niños afectados. La ausencia de círculo indica que el clon afecta a un solo niño.

Sin embargo, como se ha señalado anteriormente la colonización de estos niños adquiere aspectos mucho más complejos cuando se determinan los diversos clones que constituyen cada una de las especies señaladas. Para mostrar esta complejidad se describe la colonización por los diferentes clones de las dos especies más relevantes en este estudio: *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella pneumoniae* (Figura 16, 17, 18, 20 y 21).

Estas dos especies representan un patrón de colonización completamente diferente una de otra.

TRANSMISIBILIDAD DE *Enterobacter cloacae* AmpC

Enterobacter cloacae se detecta por primera vez como colonizante en el primer corte transversal del primer periodo de vigilancia activa (07/03/2016).

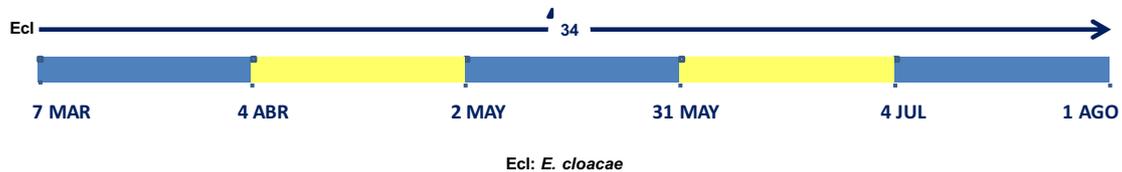


Figura 17: Cronograma de *E. cloacae* en ausencia de estudio clonal.

La longitud de la barra está en relación a la duración al periodo de colonización conocido.

⁴₃₄ La cifra de los círculos indica el número de niños afectados. La ausencia de círculo indica que el clon afecta a un solo niño.

Durante el periodo global de estudio se detecta la presencia de 30 clones multirresistentes de esta especie (Ver Figura 18, Tabla 17 y dendograma en anexo 4).

De los treinta clones hallados, 25 colonizan respectivamente a un solo niño. Estos clones esporádicos son los numerados como Ecl I, III, V-XV, XVII, XIX y XXI-XXX.

Los cinco clones restantes Ecl II, IV, XVIII, XX y XXXI afectan a más de un niño. El clon mayoritario Ecl IV afecta a 11 niños y los otros cuatro clones afectan respectivamente a dos niños cada uno.

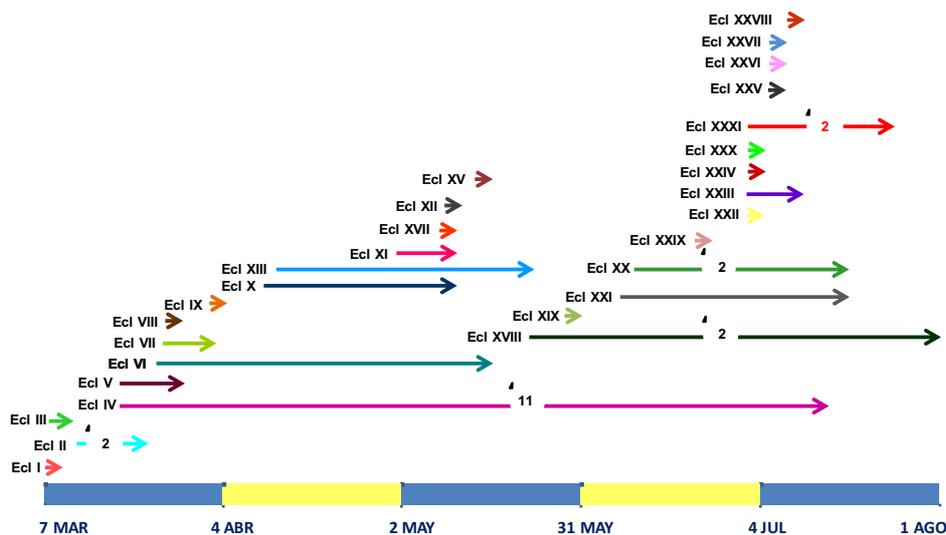


Figura 18: Cronograma clonal de *E. cloacae* durante el periodo de estudio. La longitud de las barras está en relación a la duración al periodo de colonización conocido. ⁴₂ La cifra de los círculos indica el número de niños afectados. La ausencia de círculo indica que el clon afecta a un solo niño. No se incluyen

los clones Ecl XVI (control) ni el clon XIV (detectado fuera del periodo de estudio).

Tabla 17: Clones de *E. cloacae* AmpC detectados por PFGE (muestras de vigilancia regladas y no regladas).

Clon Ecl PFGE	Niños	Fechas	Presencia del clon (días)	Mediana colonización individual
I	1	07.03.06	1	-
II	2	10.03.06-03.04.06	24	15.5 (7-24)
III	1	09.03.06	1	-
IV	11	21.03.06-25.07.06	126	9 (1-86)
V	1	21.03.06-30.03.06	9	-
VI	1	27.03.06	1	-
VII	1	28.03.06-04.04.06	7	-
VIII	1	28.03.06-04.04.06	7	-
IX	1	04.04.06	1	-
X	1	13.04.06-09.05.06	26	-
XIII	1	14.04.06-23.05.06	39	-
XI	1	01.05.06-09.05.06	9	-
XVII	1	09.05.06		-
XII	1	10.05.06	1	-
XV	1	15.05.06	1	-
XVIII	2	22.05.06-01.08.06	71	11,5 (2-21)
XIX	1	30.05.06	1	-
XXI	1	08.06.06-18.07.06	40	-
XX	2	16.06.06-18.07.06	32	16,5 (1-32)
XXIX	1	23.06.06	1	-
XXII	1	04.07.06	1	-
XXIII	1	04.07.06-08.07.06	4	-
XXIV	1	04.07.06	1	-
XXX	1	04.07.06	1	-
XXXI	2	04.07.06-28.07.06	24	9,5 (2-17)
XXV	1	08.07.06	1	-
XXVI	1	08.07.06	1	-
XXVII	1	08.07.06	1	-
XXVIII	1	11.07.06	1	-
XIV	1	28.11.06	1	-
TOTAL	34 niños	07.03.06-01.08.07	147	

Uno de los niños presentaba 6 clones, otro 3 clones y tres 2 clones respectivamente. Para realizar el PFGE se utilizan como controles tres cepas de *E. cloacae* de diferentes procedencias que no están incluidas en esta tabla.

La duración de las colonizaciones osciló entre 1 y 126 días. Teniendo en cuenta sólo los datos obtenidos a partir de las muestras regladas, la mediana de duración de la colonización es diferente (valor $p=0,28$) en función de si la colonización es esporádica (7 días con un rango que oscila entre 1 y 16) o epidémica (15 días con un rango que oscila entre 1 y 49 días). Tabla 18.

Tabla 18: Comparación de la duración de la colonización según se trate de un clon esporádico o epidémico (muestras de vigilancia regladas).

Clones Ecl esporádicos PFGE		Clones Ecl epidémicos	
Niños	13	Niños	15
Clones	I, V, VII, VIII, IX, XII, XVII, XIX, XXI, XXII, XXIII, XXVIII y XXX.	Clones	II, IV, XVIII, XX, XXXI
Días de colonización (suma total)	82	Días de colonización (suma total)	217
Mediana (días)	7	Mediana (días)	15
Rango (días)	1-16	Rango (días)	1-49

Estos clones no presentan diferencias en el perfil de sensibilidad antibiótica exceptuando el clon esporádico XXI; de este clon se aíslan seis cepas a partir del niño 91B-D (cinco de procedencia rectal y una respiratoria). Inicialmente este niño presenta cepas hiperproductoras de la cefamicinasa AmpC con un perfil atípico en el que aparece resistencia asociada a gentamicina (cepas aisladas el 8 y 10 de junio), después, en una muestra del 4 de julio coexisten dos poblaciones una resistente y otra sensible a gentamicina, posteriormente solo persiste la población sensible (cepas del 11 y 18 de julio). Tabla 19 y Figura 19.

Tabla 19: Antibiotipo de *E. cloacae* AmpC en función del clon detectado por electroforesis en campo pulsante: muestras de vigilancia regladas y no regladas.

Clones <i>E. cloacae</i> PFGE	CTX ¹	FEP	IMP	GEN	AMK	CIP	SXT
I-XV, XVII-XX, XXI _B , XXII-XXXI	R	S	S	S	S	S	S
XXI _A	R	S	S	R	S	S	S
XVI (Cepa control con sensibilidad natural)	S	S	S	S	S	S	S

CTX cefotaxima, FEP cefepime, IMP imipenem, GEN gentamicina, AMK amikacina, CIP ciprofloxacino, SXT cotrimoxazol, S sensible, R resistente.¹Estas cepas resistentes a cefotaxima por producción de AmpC son consecuentemente resistentes a ampicilina, combinaciones con inhibidores de las betalactamasas y cefalosporinas salvo el cefepime.



Figura 19: Antibiotipo de las cepas de *E. cloacae* aisladas durante el periodo de estudio.

AMP ampicilina, PTZ piperacilina-tazobactam, CEF cefalotina, GEN gentamicina, CXM cefuroxima, CTX cefotaxima, FOX cefoxitina, AMK amikacina, CAZ ceftazidima, AMC amoxicilina-clavulánico, AZT aztreonam, CIP ciprofloxacino, COL colistina, IMP imipenem, FEP cefepime, SXT cotrimoxazol.

En las figuras 20-23 se muestra la distribución clonal de los distintos aislados de *E. cloacae*.

El clon Ecl IV es el más importante al afectar a once niños repartidos en cuatro boxes. El primer caso (18A) se detecta en el tercer corte de prevalencia del primer periodo (Figura 24). Dos semanas después (04/04/16), en el último corte del periodo se detecta la colonización por el mismo clon en otros dos niños (8A y 19A). En este mismo box, diez días después un niño presenta conjuntivitis por una cepa de este clon sin que se haya podido objetivar colonización rectal previa por el mismo en los cinco cortes de

prevalencia a los que fue sometido en el primer PVA. Otros cuatro niños más presentan colonización rectal a lo largo de las casi cuatro semanas siguientes.

El día tres de mayo, el 16 de mayo y el 17 de junio se detectan este clon en niños repartidos en tres boxes diferentes.

El 28 de julio se detecta por última vez el clon que desaparece de la unidad cuando se da de alta el último niño afectado. Este aspecto es importante porque establece la primera diferencia objetiva con la difusión epidémica de *K. pneumoniae* BLEE.

Figura 20: Cronograma de *E. cloacae* AmpC durante el primer periodo de vigilancia activa.

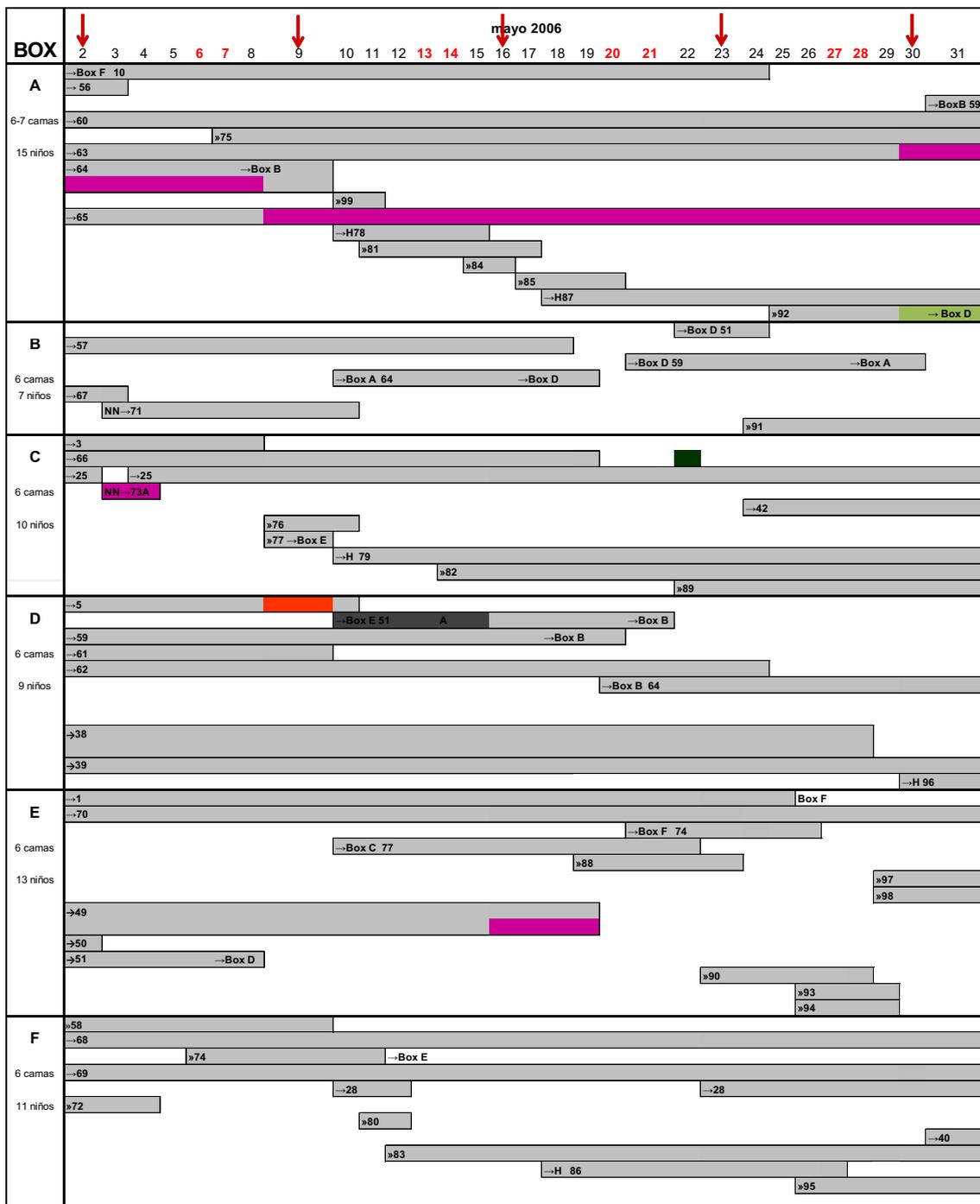


■ Clon Ecl I
 ■ Clon Ecl II
 ■ Clon Ecl III
 ■ Clon Ecl IV
 ■ Clon Ecl V
 ■ Clon Ecl VI
 ■ Clon Ecl VII
■ Clon Ecl VIII
 ■ Clon Ecl IX

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Las filas grises representan los niños ingresados que se identifican por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de *E. cloacae* multiresistente colonizante en el tubo digestivo. Cada color representa un clon diferente.

Figura 21: Cronograma de *E. cloacae* AmpC durante el segundo periodo de vigilancia activa.

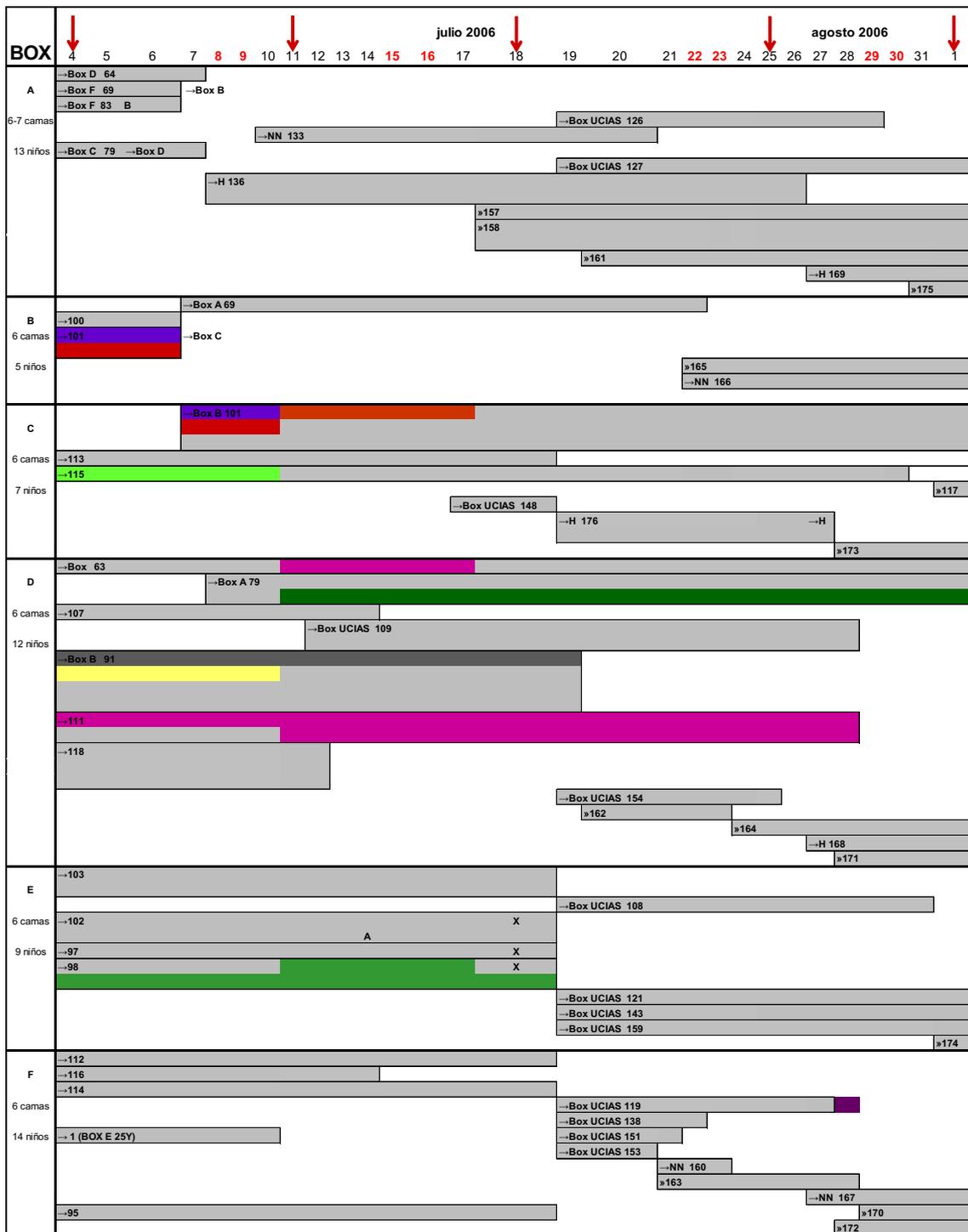


■ Clon Ecl IV
 ■ Clon Ecl X
 ■ Clon Ecl XI
 ■ Clon Ecl XII
 ■ Clon Ecl XVII
 ■ Clon Ecl XVIII
 ■ Clon Ecl XVIII

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Las filas grises representan los niños ingresados que se identifican por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de *E. cloacae* multiresistente colonizante en el tubo digestivo. Cada color representa un clon diferente.

Figura 22: Cronograma de *E. cloacae* AmpC durante el tercer periodo de vigilancia activa.

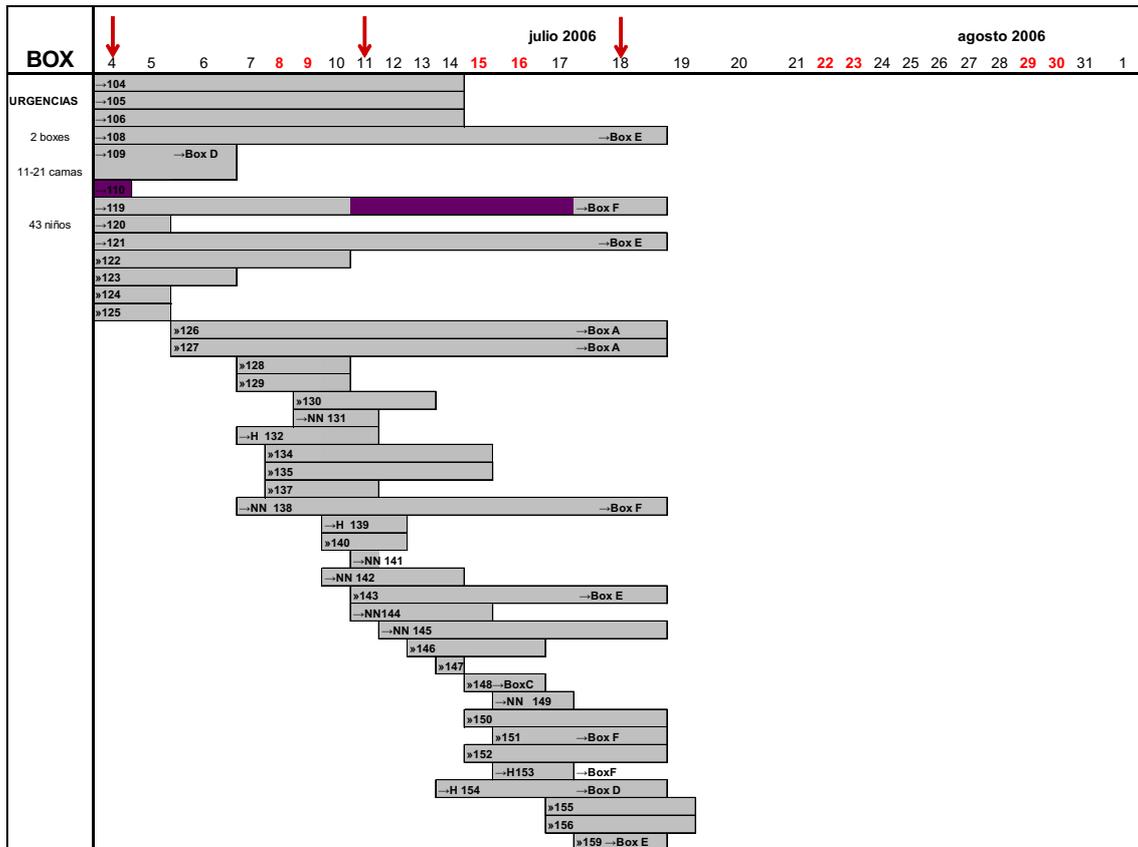


■ Clon Ecl IV ■ Clon Ecl XVIII ■ Clon Ecl XX ■ Clon Ecl XXI ■ Clon Ecl XXII ■ Clon Ecl XXIII
■ Clon Ecl XXIV ■ Clon Ecl XVIII ■ Clon Ecl XXX ■ Clon Ecl XXXI

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Las filas grises representan los niños ingresados que se identifican por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de *E. cloacae* multiresistente colonizante en el tubo digestivo. Cada color representa un clon diferente.

Figura 23: Cronograma de *E. cloacae* AmpC durante el tercer periodo de vigilancia activa, box desdoblado ubicado en Urgencias para nuevos ingresos.



Clon Ecl XXXI

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Las filas grises representan los niños ingresados que se identifican por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de *E. cloacae* multirresistente colonizante en el tubo digestivo. Cada color representa un clon diferente.

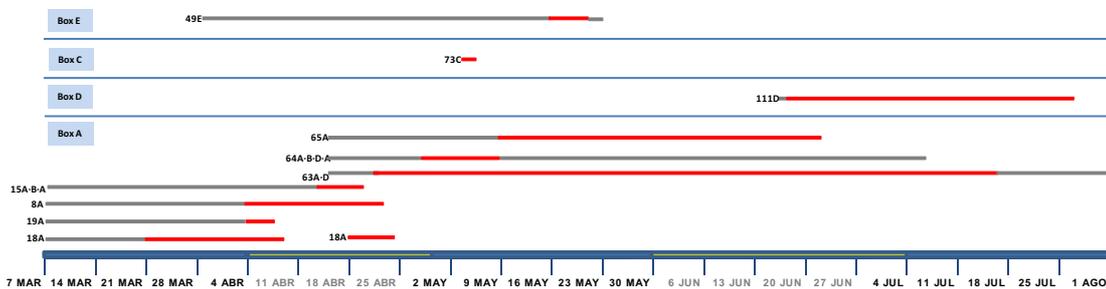


Figura 24: Cronograma de *E. cloacae* AmpC clon Ecl IV durante el periodo de estudio.

Esta figura hace referencia únicamente al clon Ecl IV y es el resumen para ese clon de las figuras 20, 21 y 3.22. El niño 35A no se refleja aquí al detectarse la colonización una vez dado de alta de la UCIN.

Cabe destacar que las nuevas colonizaciones por las cepas del clon Ecl IV siempre se producen en presencia de algún niño ya colonizado en la Unidad (Figuras 24 y 25). Sin embargo, como puede verse en la figura 25, prácticamente no ha existido variación del número de casos presentes en la unidad a lo largo de todo el periodo epidémico a pesar de las altas de alguno de los niños afectados. La negativización sólo se puede objetivar en 3 de estos 11 niños. Como se verá este perfil es diferente del de *K. pneumoniae* que se presenta más adelante.

Si sumamos el tiempo en riesgo de colonización de cada uno de los 11 niños afectados por este clon, obtenemos que la suma de días-niño de riesgo total es 121 siendo la mediana de días que cada niño convive con otro colonizado hasta que se coloniza de 11,5 días (rango de 0-34 días).

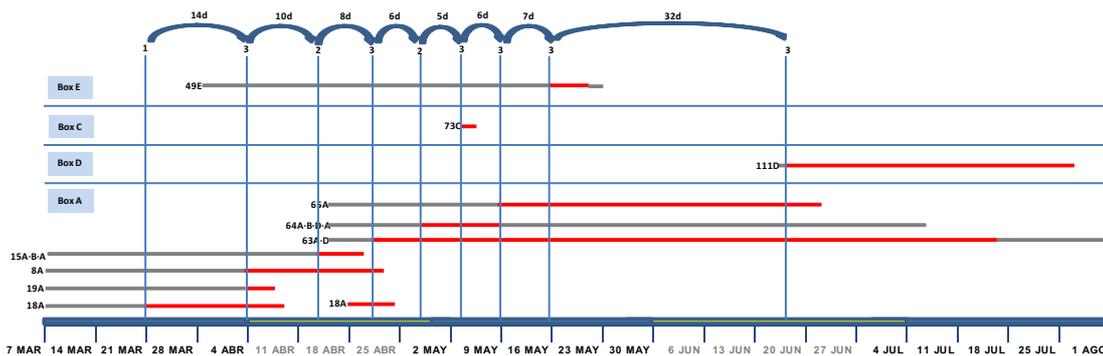


Figura 25: Cronograma de *E. cloacae* AmpC clon Ecl IV durante el periodo de estudio.

Se detalla el intervalo de días hasta la aparición de nuevos casos y el número de niños colonizados en ese momento.

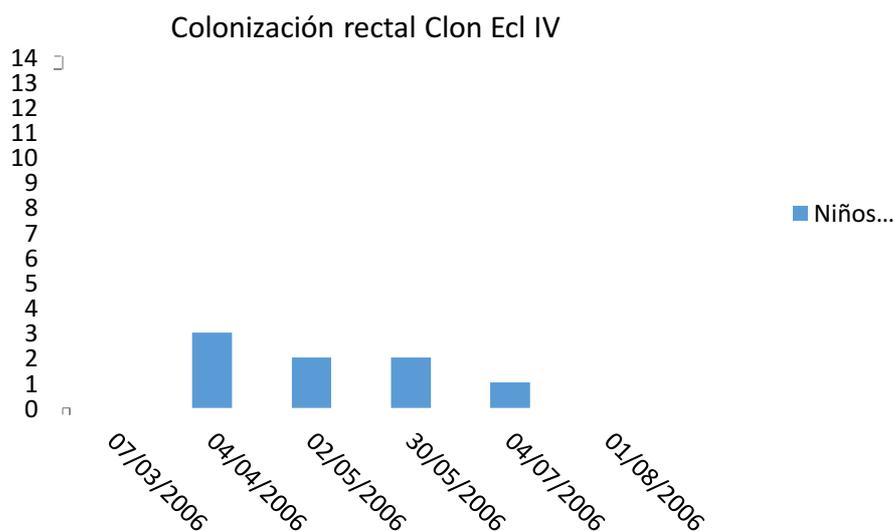


Gráfico 2: Presencia de niños colonizados por *E. cloacae* AmpC clon Ecl IV durante el periodo de estudio.

En los cuatro clones adicionales que colonizan a dos pacientes respectivamente, existe una convivencia en la unidad entre el caso índice y el secundario.

El clon epidémico, clon Ecl II, aparece el 10 de marzo, en el cultivo de alta, y afecta únicamente a dos niños, ambos ingresados en el box E (13E-C y 16E). En el segundo niño, el 16E, la colonización se detecta cuatro días después, en el segundo corte de prevalencia. Este niño había convivido con el anterior desde su ingreso, al nacimiento, el 28 de febrero. Ver Figura 26.

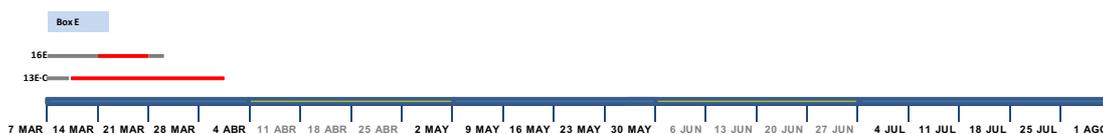


Figura 26: Cronograma de *E. cloacae* AmpC clon Ecl II durante el periodo de estudio. Esta figura hace referencia únicamente al clon Ecl II que también se representa gráficamente en la figura 20.

El clon epidémico Ecl XVIII se detecta en dos niños del estudio, el 22 de mayo (cultivo de alta, estando ya el niño fuera de la unidad) y el 11 de julio(segundo corte de prevalencia del tercer PVA) respectivamente, pero previamente, el 18 de mayo, se había detectado ya en el frotis rectal de un niño ingresado ya en la Unidad de Cuidados

Intermedios. Estos dos niños coinciden en el box C durante diez días desde el ingreso del segundo niño el 10 de mayo. Ver Figura 27.

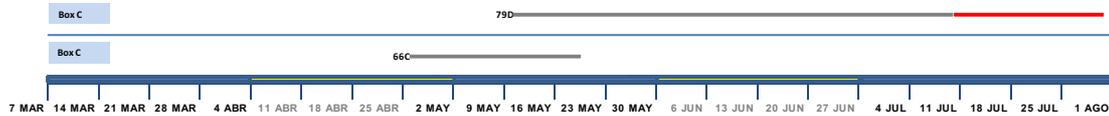


Figura 27: Cronograma de *E. cloacae* AmpC clon Ecl XVIII durante el periodo de estudio.

Esta figura hace referencia únicamente al clon Ecl XVIII y es el resumen para ese clon de las figuras 20, y 3.21. No se marca la colonización del niño 66C porque esta se detecta una vez es dado de alta de la UCIN.

El clon epidémico Ecl XX se detecta en tres niños, dos de ellos hermanos, desde el 11 al 16 de junio. Al aparecer en un interperiodo en el que no se realizan cultivos programados, en el primer niño únicamente se halla en un hemocultivo (por lo que no está representado gráficamente en la figura 25) y en los otros dos en sendos frotis rectales indicados por el Servicio de Medicina Preventiva el 22 de mayo (cultivo de alta). Ver Figura 28.

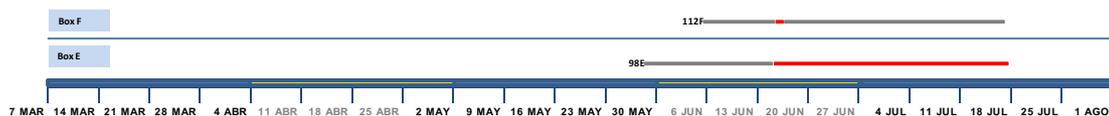


Figura 28: Cronograma de *E. cloacae* AmpC clon Ecl XX durante el periodo de estudio.

Esta figura hace referencia únicamente al clon Ecl XX que también se representa gráficamente en la figura 22. En el niño 112F se detecta en un único cultivo rectal no reglado.

Por último, el clon epidémico Ecl XXXI, afecta a dos niños ubicados en el box de Urgencias habilitado para acoger nuevos ingresos durante el brote por *Klebsiella pneumoniae*. Estos niños ingresan en el box casi simultáneamente (20 y 21 de junio) y probablemente se transmita la cepa de uno de los niños al otro ya que se detecta con una semana de diferencia. Ver Figura 29.

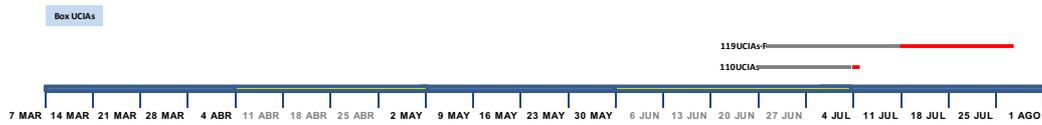


Figura 29: Cronograma de *E. cloacae* AmpC clon Ecl XXXI durante el periodo de estudio. Esta figura hace referencia únicamente al clon Ecl XXXI que también se representa gráficamente en las figuras 22 y 23.

Los clones Ecl I, III, V-XVII, XIX y XXI-XXX, que son esporádicos, no se detectan en el control de ingreso sino posteriormente y no están relacionados con las cepas de otros niños, ni se puede atribuir objetivamente su procedencia a la familia, al personal o a algún fómite, aunque cualquiera de estos es su origen más probable.

TRANSMISIBILIDAD DE *Klebsiella pneumoniae* BLEE

La primera cepa multirresistente colonizante de esta especie fue detectada al final del primer periodo, el día 03 de abril de 2006.

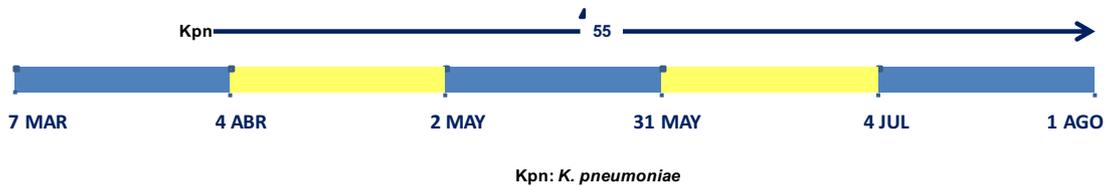


Figura 30: Cronograma de *K. pneumoniae* en ausencia de diferenciación clonal.

La longitud de la barra está en relación a la duración al periodo de colonización conocido.

⁴₅₅ La cifra de los círculos indica el número de niños afectados. La ausencia de círculo indica que el clon afecta a un solo niño.

En esta especie se constata la existencia de 12 clones. Ver Tabla 20, Figura 31 y dendograma en anexo 4.

Nueve clones se detectan como casos esporádicos ya que colonizan a un único niño respectivamente. Son los clones Kpn II, IV-VI, VIII, X-XII, XIV.

Tres clones (Kpn I, III y VII) poseen carácter epidémico afectando a varios niños.

La duración de las colonizaciones por los diversos clones osciló entre 1 y 289 días.

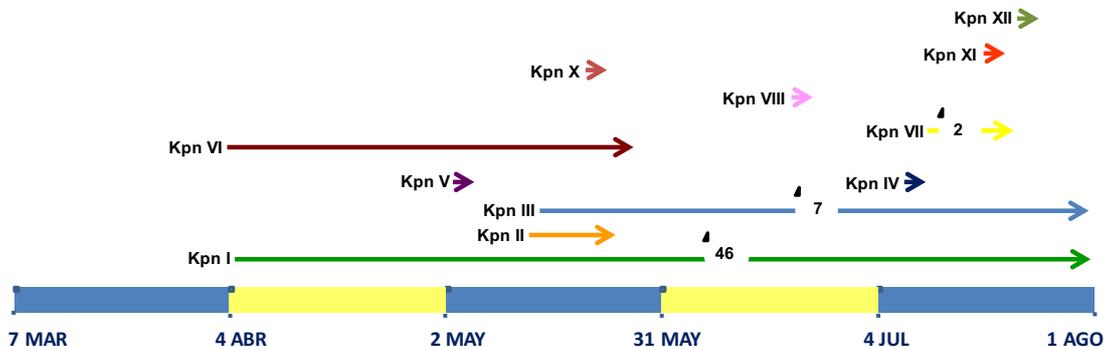


Figura 31: Cronograma clonal de *K. pneumoniae* durante el periodo de estudio.

La longitud de las barras está en relación a la duración al periodo de colonización conocido.

⁴₂ La cifra de los círculos indica el número de niños afectados. La ausencia de círculo indica que el clon afecta a un solo niño.

No están representados los clones asignados a cepas control con sensibilidad natural (clones Kpn IX, XIII y XV) ni aquellos que aparecen ya fuera del periodo de estudio (clon Kpn XIV).

Tabla 20: Clones de *K. Pneumoniae* BLEE detectados por PFGE (muestras de vigilancia regladas y no regladas).

Clon PFGE	Kpn Niños	Fechas	Presencia del clon (días) ¹	Mediana colonización individual
VI	1	03.04.06-30.05.06	57	-
I	46	04.04.06-18.01.07	289	16 (1-242)
V	1	03.05.06	1	-
II	1	18.05.06-26.05.06	18	-
III	7 (+ ecocardiógrafo)	19.05.06-02.08.06	75	7 (1-14)
X	1	24.05.06	1	
VIII	1	18.06.06	1	
IV	1	08.07.06	1	
VII	2	10.07.06-17.07.06	7	1
XI	1	17.07.06	1	
XII	1	23.07.06	1	
XIV	1	07.11.06	1	
TOTAL	Kpn BLEE estudio 55 niños	03.04.06-18.01.07	290	

¹Los días que indican la presencia del clon hacen referencia al tiempo que transcurre desde su detección inicial en la unidad hasta la última detección independientemente de los niños a los que afecte. Seis presentaban estaban colonizados por 2 clones y un niño por cuatro. Los clones IX, XIII y XV no se reflejan en la tabla porque corresponden a cepas utilizadas como control de la técnica de PFGE.

La duración de las colonizaciones osciló entre 1 y 289 días. Teniendo en cuenta sólo los datos obtenidos a partir de las muestras regladas, la mediana de la duración de la colonización es diferente pero no estadísticamente significativa (Valor p = 0,61) en los casos de colonización esporádica (2,5 días con un rango que oscila entre 1 y 59) en relación a los casos epidémicos (9 días con un rango que oscila entre 1 y 67 días). Ver tabla 21.

Tabla 21: Comparación de la duración de la colonización según se trate de un clon esporádico o epidémico (muestras de vigilancia regladas).

Clones Kpn esporádicos PFGE		Clones Kpn epidémicos	
Niños	4	Niños	37
Clones	II, V, VI, XI	Clones	I, III, VII
Días de colonización (suma total)	65	Días de colonización (suma total)	476
Mediana (días)	2.5	Mediana (días)	9
Rango (días)	1-59	Rango (días)	1-67

En la tabla 22 y en la figura 32 se muestran las diferencias de sensibilidad de los diversos clones de esta especie. Todas las cepas de *Klebsiella pneumoniae* de este estudio se consideraron multirresistentes por producir una betalactamasa de espectro extendido (BLEE) independientemente de que se asociaran a resistencia a otras familias de antimicrobianos.

Tabla 22: Antibiotipo de *K. pneumoniae* BLEE en función del clon detectado por electroforesis en campo pulsante (PFGE): muestras de vigilancia regladas y no regladas.

<i>K. pneumoniae</i> Clones PFGE	CTX ¹	FEP	IMP	GEN	AMK	CIP	SXT
II, III, IV, V, VI, VII, X, XI, XII, XIV	R	R	S	S	S	S	S
I, VIII	R	R	S	R	S	S	R
IX, XIII, XV (Cepas control con sensibilidad natural)	S	S	S	S	S	S	S

CTX cefotaxima, FEP cefepime, IMP imipenem, GEN gentamicina, AMK amikacina, CIP ciprofloxacino, SXT cotrimoxazol, S sensible, R resistente.

¹Estas cepas resistentes a cefotaxima por producción de BLEE son consecuentemente resistentes a ampicilina y cefalosporinas salvo cefoxitina.



Figura 32: Antibiotipo de las cepas de *K. pneumoniae* BLEE aisladas durante el estudio. Cabe resaltar la resistencia asociada a gentamicina (GEN) y cotrimoxazol (SXT) típica del clon epidémico Kpn I.

AMP ampicilina, PTZ piperacilina-tazobactam, CEF cefalotina, GEN gentamicina, CXM cefuroxima, CTX cefotaxima, FOX cefoxitina, AMK amikacina, CAZ ceftazidima, AMC amoxicilina-clavulánico, AZT aztreonam, CIP ciprofloxacino, COL colistina, IMP imipenem, FEP cefepime, SXT cotrimoxazol.

En las figuras 33-36 se muestra la distribución clonal de los distintos aislados de *K. pneumoniae*.

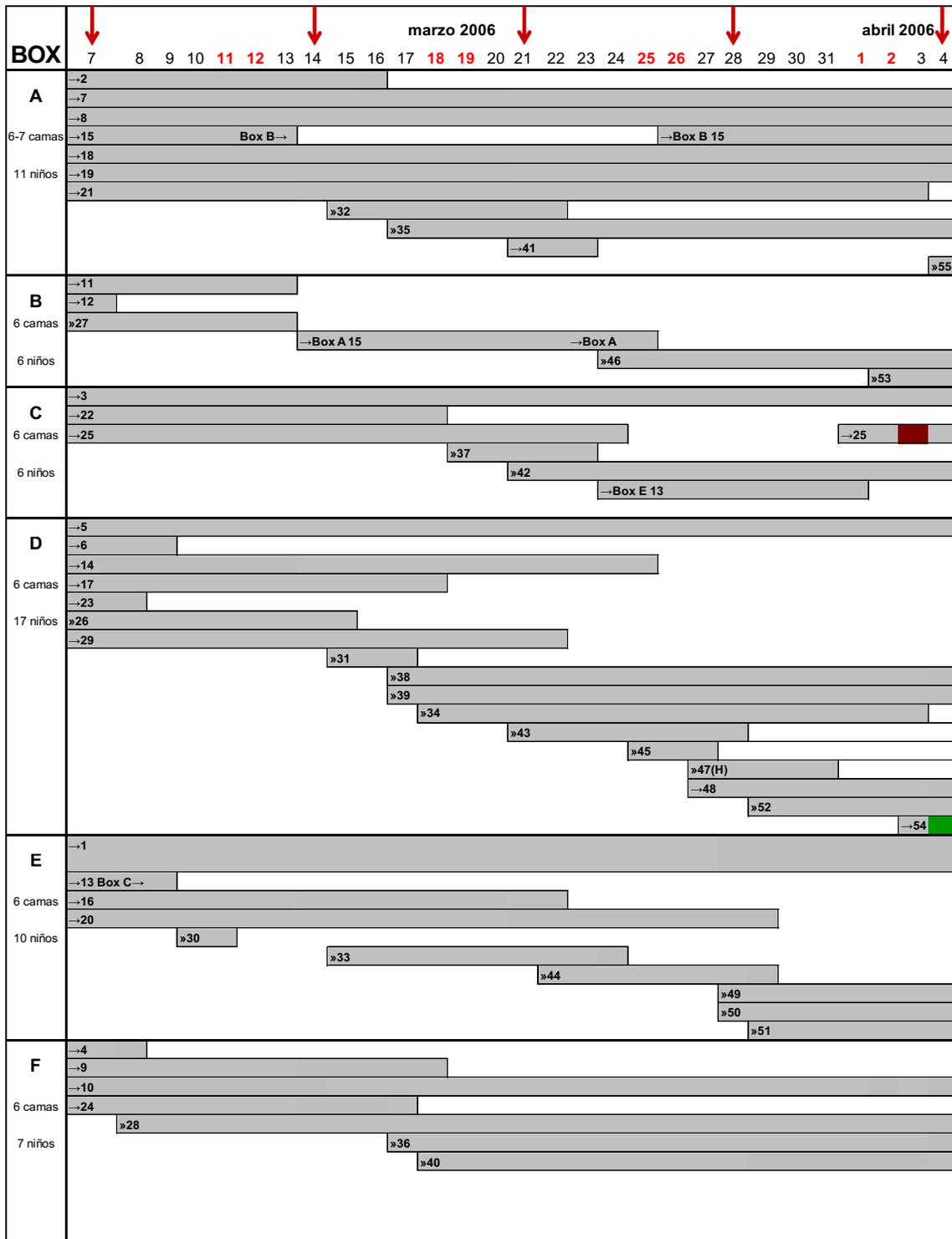
Como puede observarse en la figura 32, el clon Kpn I es el clon epidémico que afecta a un mayor número de niños. Como característica diferencial respecto a los otros clones destaca que, además de producir una betalactamasa de espectro extendido (CTX-M-G1), presenta resistencia asociada a gentamicina y cotrimoxazol.

El clon Kpn I afecta primero al niño 54D, que ingresó el 3 de abril proveniente de la Unidad de Cuidados Intermedios. El clon se detectó en el cultivo de ingreso, el día 4 de abril, por lo que la colonización había sido adquirida previamente a su entrada en la UCIN.

Además este cultivo de ingreso coincide con el último corte de prevalencia del primer PVA por lo que se puede afirmar que ese día era el único niño que presentaba colonización por este clon (Ver Figura 23). Este niño vuelve a ser trasladado a Cuidados intermedios el día 18 de abril.

Esta observación nos sugiere que quizás a pesar de la personalidad de determinadas unidades en las que se tienen cuidados de aislamiento específicos bajo ciertas circunstancias el hospital puede considerarse como un todo y si fuera así los protocolos de detección y control de la multirresistencia quizás deberían tener en cuenta este hecho.

Figura 33: Cronograma de *K. pneumoniae* BLEE durante el primer periodo de vigilancia activa (PVA).



■ Clon Kpn I ■ Clon Kpn VI

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Las filas grises representan los niños ingresados que se identifican por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de *K. pneumoniae* multirresistente colonizante en el tubo digestivo. Cada color representa un clon diferente.

En el primer interperiodo, el niño 54D se supone colonizado ya que los días 8 y 24 de abril se detecta el clon en dos muestras clínicas (exudado de herida quirúrgica y conjuntival). Durante este interperiodo también se detecta mediante cultivos no reglados en los niños 38D, 62D y 61D ingresados todos en el box D. Posteriormente este clon es adquirido por otros tres niños del box D (39D, 64A·B·D·A y 96D) y se detecta en un frotis rectal no reglado en otro niño, el niño 5D, una vez dado de alta de la UCIN. Por tanto, durante este tiempo (IP1) se colonizan siete niños todos menos uno ingresados en algún momento en el Box D. Cinco de estos (38D, 39D, 5D, 62D y 61D) coinciden tempororo-espacialmente en el Box D con el caso índice mientras que el sexto niño (96D) coincidió con todos los niños menos el caso índice con el que tampoco coincidió en la Unidad de Cuidados Intermedios (uno en Box 2 y otro en Box 3). El último niño (64A·B·D·A) también ingresa durante el primer IP pero en otro box y presenta colonización en el cultivo de inicio del segundo periodo de vigilancia activa por lo que de alguna forma se coloniza en el interperiodo previo. El 20 de abril este clon se detecta en un exudado umbilical en el niño 29D dado de alta de la UCIN el día 22 de marzo.

En el primer día del segundo periodo de vigilancia activa, el caso índice ya no se encuentra en la unidad ya que, como se ha mencionado, fue dado de alta a mediados de abril (Figura 34). En el cultivo inicial (2 de mayo) persisten ingresados y colonizados cinco niños citados anteriormente (38D, 39D, 62D, 61D y 64A·B·D·A). Se detecta colonización en los niños 10F·A (Box A) y 50E·D (Box E) por lo que probablemente estos niños se colonizaron también durante el primer interperiodo. Posteriormente se detecta el clon Kpn I en los niños 28F (cultivo de reingreso), 17D (muestras no regladas una vez fuera de la UCIN), 49E·D; 40F, 78 y 84A (los tres también fuera de la UCIN en el momento del cultivo inicial), 25C, 1E·F, 21A (Box 6 de Cuidados Intermedios), 90E (cultivo de alta), 42C y 36F (Cuidados Intermedios).

Así, durante este periodo se objetiva que el clon Kpn I afecta a catorce niños ingresados en la Unidad y otros cinco que, aunque se encuentran ya dados de alta, han estado ingresados en la misma. Por lo tanto el clon se ha extendido en todos los boxes de la UCIN excepto el B y probablemente estén afectados los Boxes de Cuidados Intermedios. Esta sospecha está fundamentada en el hecho de que el caso índice procede de cuidados intermedios y que en muchos de los niños colonizados se detecta esta colonización estando ingresados en los boxes clasificados como tal.

Figura 34: Cronograma de *K. pneumoniae* BLEE durante el segundo PVA.



■ Clon Kpn I
 ■ Clon Kpn II
 ■ Clon Kpn III
 ■ Clon Kpn V
 ■ Clon Kpn VI

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Las filas grises representan los niños ingresados que se identifican por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de *K. pneumoniae* multirresistente colonizante en el tubo digestivo. Cada color representa un clon diferente.

En el segundo interperiodo de vigilancia se detecta por primera vez la colonización mediante cultivos no reglados en seis niños más, los niños 83F·A, 15A·B·A, 95F, 114F, 69F·A·B y 113C. Siguen apareciendo aislamientos de esta cepa en muestras de diferentes localizaciones de los niños 5D, 61D, 64D, 15A·B·A, 38D, 39D, 42C, 49E y 50E.

Ya se ha mencionado que la rapidez de colonización de los niños en la UCIN por *K. pneumoniae* productora de BLEE y otros multirresistentes obliga a habilitar dos boxes adicionales en Urgencias, para preservar de esta colonización a los niños nuevos que ingresan (Figura 36).

En este tercer periodo de vigilancia activa se detecta este clon epidémico en todos los boxes de la Unidad.

En el primer corte de prevalencia del tercer periodo ya aparecen colonizados los niños 79C·A·D, 97E, 102E, 103E y 112F. En este corte se sigue detectando colonización en los niños 64D, 83F·A, 113C, 114F, 1E·F y 95F.

Al final de esta primera semana de estudio, además de detectarse colonización en todos los boxes excepto el B, se observa la colonización de dos niños ingresados en los boxes habilitados en urgencias, niños 128 y 132UCIAs (Figuras 35 y 36).

Posteriormente se detecta colonización en los niños 136A, 151UCIAs·F, 162D, 164D, 166B, 126UCIAs·A y 161A. También se detecta por primera vez en los niños 37C y 19A, ya dados de alta incluso del hospital, durante un segundo ingreso en la UCI pediátrica. Siguen detectándose cultivos de vigilancia positivos en los niños 69A·B, 42C, 17D y 28F (todos menos el primero en boxes de cuidados intermedios). Una vez finalizado el periodo de estudio se detecta este clon colonizando al niño 138UCIAs·F completando así un total de 46 niños colonizados. Además se detecta como causante de infección en otros dos niños a priori no colonizados, los niños 173C y 153UCIAs·F.

Figura 35: Cronograma de *K. pneumoniae* BLEE durante el tercer periodo de vigilancia activa.

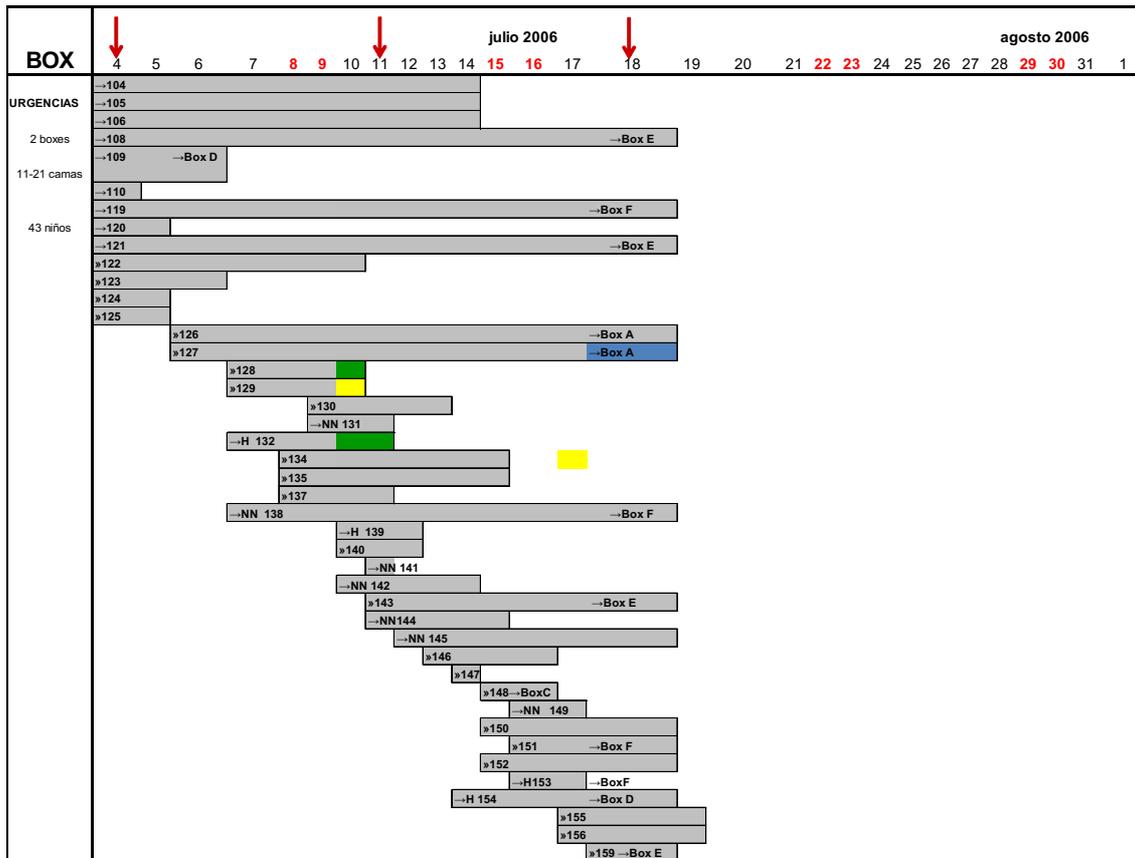


■ Clon Kpn I ■ Clon Kpn III ■ Clon Kpn XI

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Las filas grises representan los niños ingresados que se identifican por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de *K. pneumoniae* multiresistente colonizante en el tubo digestivo. Cada color representa un clon diferente.

Figura 36: Cronograma de *K. pneumoniae* BLEE durante el tercer periodo de vigilancia activa, box desdoblado ubicado en Urgencias para nuevos ingresos.



■ Clon Kpn I ■ Clon Kpn III ■ Clon Kpn VII

↓ Fecha en que se realizan los cinco cultivos reglados.

Las filas grises representan los niños ingresados que se identifican por un número que se mantiene a lo largo de todo el estudio. Las zonas de color dentro de las filas indican la presencia de *K. pneumoniae* multiresistente colonizante en el tubo digestivo. Cada color representa un clon diferente.

El esquema global de la aparición de este clon en la unidad puede verse en la Figura 37 donde se observa también la coexistencia, en muchos de estos niños, de otras cepas colonizantes.

Al igual que en el caso de *Enterobacter* sp. las nuevas colonizaciones por las cepas del clon Kpn I se producen siempre en presencia de algún niño ya colonizado en la Unidad (Figuras 37 y 38). En este caso, sin embargo, existe una amplia variación del número de casos presentes en la unidad a lo largo de todo el periodo epidémico. La negativización sólo se puede objetivar en 1 de los 31 niños representados (niño 164D) por lo que a la finalización del brote contribuyen las altas y no la erradicación de la colonización individual.

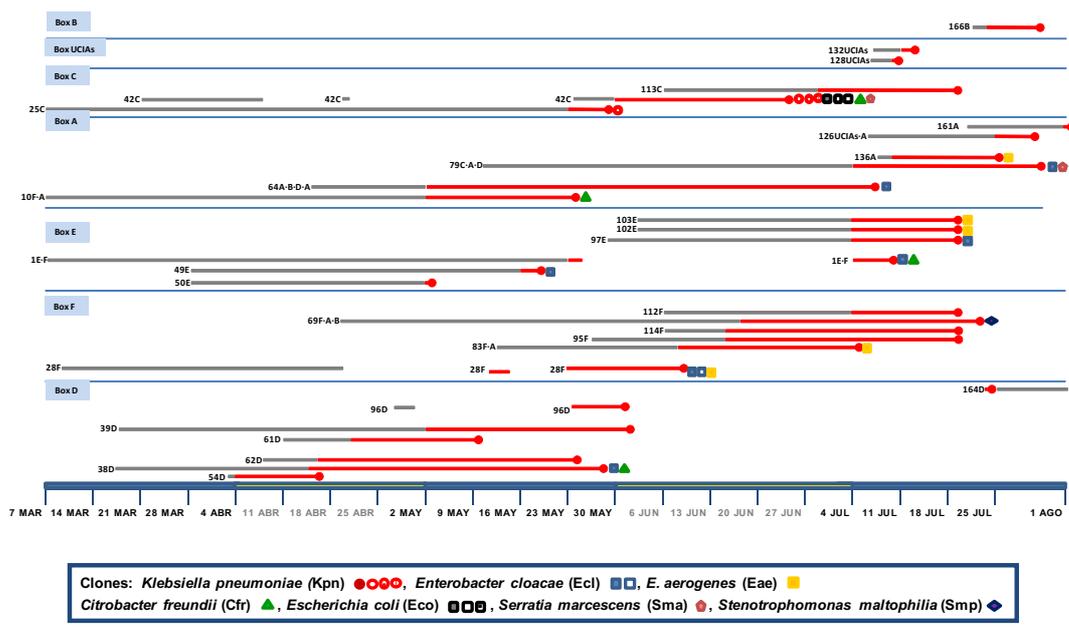


Figura 37: Cronograma de *K. pneumoniae* BLEE clon Kpn I en presencia de otras colonizaciones concomitantes. Esta figura hace referencia únicamente al clon Kpn I y es el resumen para ese clon de las figuras 23, 24, 25 y 26. No se representan gráficamente aquellos niños en los que el aislamiento se produce cuando ya han sido dados de alta de la UCIN.

Si sumamos el tiempo en riesgo de colonización de cada uno de los niños afectados por este clon obtenemos que la suma de días-niño de riesgo total es 1266 siendo la mediana de días que cada niño convive con otro colonizado hasta que se coloniza de 5 días (rango de 0-216).

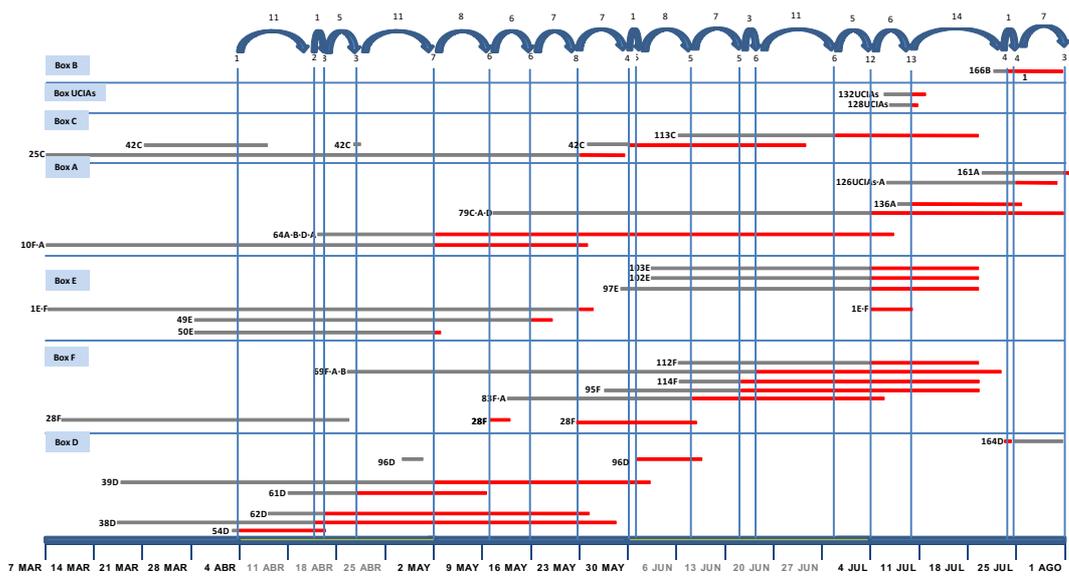


Figura 28: Cronograma de *K. pneumoniae* BLEE clon Kpn I durante el periodo de estudio. Se detalla el intervalo de días hasta la aparición de nuevos casos y el número de niños colonizados en ese momento.

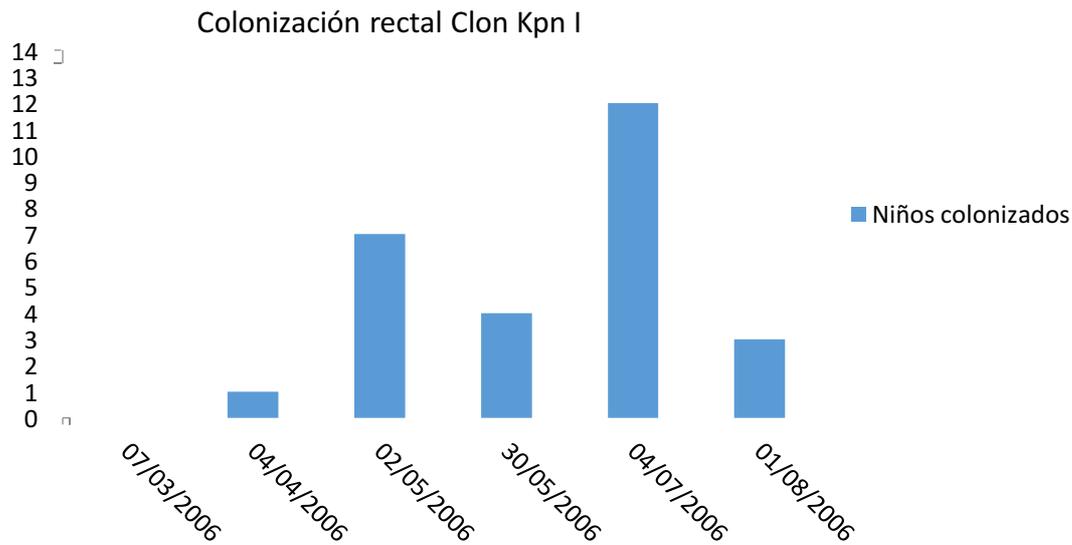


Gráfico 3: Curva de aparición de los niños colonizados por *K. pneumoniae* clon Kpn I durante el periodo de estudio.

El clon Kpn III es también un clon epidémico que afecta a 7 niños (Figura 39). Se diferencia del anterior porque en este caso la cepa portadora de BLEE no presenta resistencias asociadas. Ver Figura 32.

El primer niño afectado es el niño 84A que había estado ingresado desde su nacimiento el 15 de mayo un día en la UCIN. Esta cepa se detecta mediante un cultivo rectal el 19 de mayo, a los tres días de ingresado en la Unidad de Cuidados Intermedios. Cuatro días después, en un nuevo frotis rectal, es reemplazado por una cepa del clon mayoritario Kpn I.

Posteriormente se colonizan el niño 42 del Box C (42C) cuya colonización se detecta en el último corte de prevalencia del 2º PVA, el 30 de mayo, coexistiendo la cepa de este clon con una cepa del clon epidémico mayoritario Kpn I. Este niño no había coincidido en el mismo box con el caso índice ni siquiera fuera de la UCIN (Box 5 y Box 3 respectivamente).

Durante este periodo y el interperiodo siguiente no se detecta transmisión de Kpn III a ningún otro niño.

El niño 42C fue dado de alta el día 25 de junio (segundo interperiodo), de manera que al inicio del tercer periodo ninguno de los dos niños colonizados estaba en boxes de UCI. En este tercer periodo aparece en otros cinco niños con fechas 17, 18 y 25 de julio. El 17 de julio se detecta, en el cultivo de ingreso, en el niño 148 UCIA-C, estando ya este niño en el Box C (había estado los dos días previos en el Box de Urgencias) coexistiendo con una cepa del clon esporádico Kpn XI que a diferencia del clon III ya no se detecta en el cultivo de alta al día siguiente.

El 17 de julio, dada la aparición de nuevos casos de *K. pneumoniae* BLEE a pesar de las medidas epidemiológicas adoptadas (en ese momento no se conocía la coexistencia de dos clones, Kpn I y Kpn III aunque si se observaba variabilidad de las cepas en cuanto a la resistencia asociada a gentamicina y cotrimoxazol), se realiza un estudio para valorar la existencia de un reservorio en el medio ambiente y/o el personal sanitario de la Unidad. En este sólo se halla una cepa de *K. pneumoniae* BLEE en el teclado de un aparato de ecocardiografía. Esta cepa, tras realizar PFGE, se clasifica como perteneciente al clon Kpn III.

El 18 de julio, el tercer corte reglado programado permite detectar esta cepa en los niños 91B-D y 127UCIA-A.

El 25 de julio, en el cuarto corte reglado se observa la colonización rectal en los niños 157A y 158A, que podían haberse colonizado a partir del niño 127UCIA-A con el que compartían box desde el día 19 de julio.

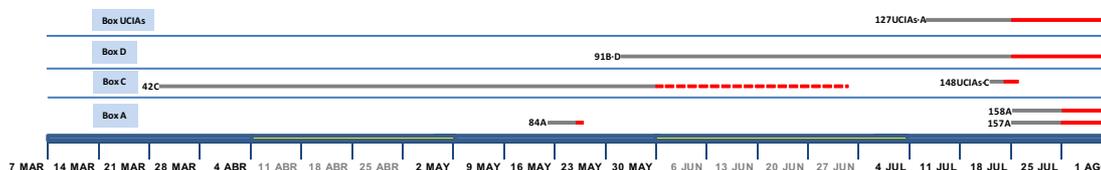


Figura 29: Cronograma de *K. pneumoniae* BLEE clon Kpn III. Esta figura hace referencia únicamente al clon Kpn III que también se representa gráficamente en las figuras 24, 25 y 26.

La línea discontinua en el niño 42C se debe a la existencia de un interperiodo en el cual no se hacen cultivos de vigilancia por lo que no podemos asegurar que la colonización permanezca y tampoco que desaparezca.

El clon Kpn VII aparece en otros dos niños durante su estancia en el box de urgencias habilitado para nuevos ingresos durante el brote, se trata de los niños 129UCIAs y 134UCIAs (Figura 30). En el caso del niño 129UCIAs que ingresa el 7 de julio, esta cepa se detecta en el cultivo de alta el 10 de julio. El niño 134UCIAs, ingresa un día después que el niño 129 pero coincide en el box con este cuatro días y presenta el aislamiento también en el cultivo de alta, el día 17 de julio estando ya en la Unidad de Cuidados Intermedios.



Figura 30: Cronograma de *K. pneumoniae* BLEE clon Kpn VII. Esta figura hace referencia únicamente al clon Kpn VII que también se representa gráficamente en la figura 26.

Finalmente en referencia a los clones epidémicos más relevantes puede observarse en el gráfico 4 que intenta resumir de forma muy esquemática su evolución temporal, que en los meses de verano hay una mayor incidencia de los mismos probablemente en relación a los recambios de personal de dicho periodo

Distribución de cepas epidémicas

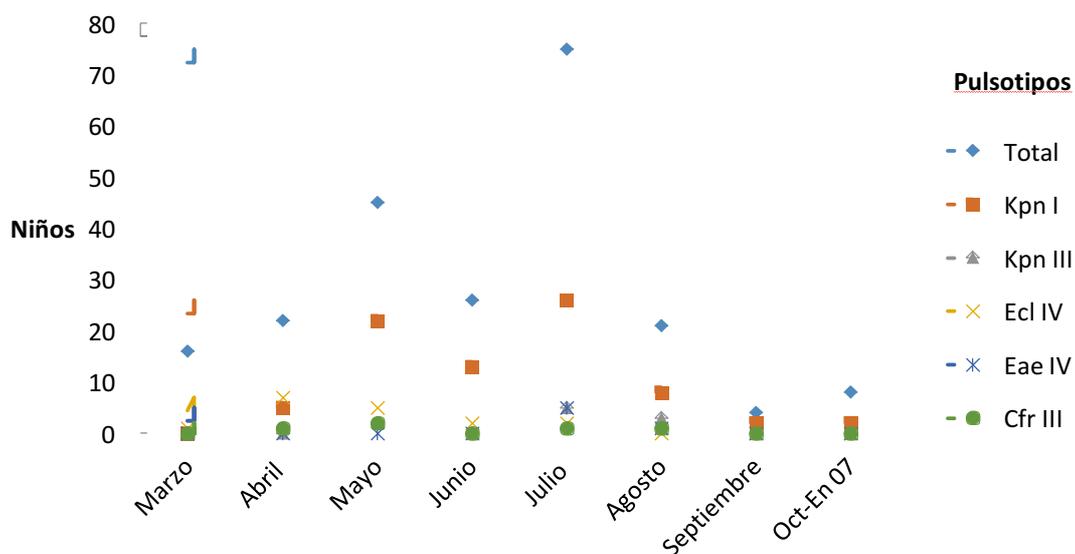


Gráfico 4: Secuencia temporal de la aparición de los niños colonizados por las principales cepas epidémicas que aparecen a lo largo del estudio en la UCIN. Marzo, mayo y julio son los meses en que se realizó el estudio y por tanto vigilancia activa de todos los niños de la unidad.

Kpn: *Klebsiella pneumoniae*; Ecl: *Enterobacter cloacae*; Eae: *Enterobacter aerogenes*; Cfr: *Citrobacter freundii* No se representan clones de *E. coli*, *K. oxytoca*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *A. baumannii* o *S. aureus* resistente a metilina porque siguen una distribución policlonal o se aíslan en un solo niño.

APARTADO 4:

INFECCIONES DIAGNOSTICADAS EN EL PERIODO DE ESTUDIO. COLONIZACIÓN POR BMR COMO PASO PREVIO A LA INFECCIÓN.

Durante todo el periodo de estudio, en los 176 niños evaluados se han detectado 170 infecciones sistémicas (profundas) y 91 infecciones superficiales, tal como se recoge en las tablas 23 y 24.

Infecciones profundas

Entre las infecciones profundas, las más frecuentes son las bacteriemias de las que se han detectado 84 episodios microbiológicamente documentados a las que puede añadirse 7 casos de fungemia y 21 casos en los que el diagnóstico de sepsis se basó en la sintomatología clínica. Adicionalmente a estos casos de fungemia se identificó una endocarditis causada por *Candida albicans*.

El segundo grupo de infecciones en función de la frecuencia de aparición fueron las infecciones respiratorias; de ellas 11 fueron de etiología desconocida, 10 de etiología vírica y 7 de etiología bacteriana.

Se detectaron 13 infecciones urinarias, de las que 10 eran de etiología bacteriana y en 3 se aisló *Candida* sp. como agente causal.

Así mismo se detectaron 6 infecciones intrabdominales (peritonitis y/o enterocolitis necrotizante), 2 de origen bacteriano y 1 fúngica; en las 3 restantes no se detectó la etiología.

Por último se constata la presencia de dos meningitis, una de etiología desconocida y otra causada por un enterovirus.

Infecciones superficiales

En referencia a las infecciones superficiales, las más frecuentes son las conjuntivitis de las que se han detectado 20 episodios de etiología desconocida, 11 atribuidos a bacterias y 1 en el que se aísla una *Candida* sp.

Se detectan, dentro de las infecciones muco-cutáneas, 4 infecciones en las que no se puede demostrar etiología fúngica (lesiones erosivas sangrantes a los lados de la lengua e impetiginizadas en ambas mejillas de uno de los niños, celulitis cervical, infección inguinal por *P. aeruginosa* y un absceso cutáneo axilar) y 26 que corresponden a candidiasis muco-cutáneas.

Siguen en orden de frecuencia 20 infecciones de la incisión quirúrgica, todas ellas de etiología bacteriana excepto 6 en las que no se detectó el agente causal.

Finalmente se detectaron 9 infecciones locales del punto de inserción del catéter en las que no se asociaba bacteriemia, 1 de etiología desconocida y las 8 restantes de etiología bacteriana.

Tabla 23: Infecciones sistémicas. Localización y etiología.

Infecciones sistémicas (niños infectados)	Primer PVA (29 niños)	Segundo PVA (25 niños)	Tercer PVA (26 niños)	Total (80 niños)
Bacteriemia	28 (4)	25 (7)*	31 (4)	84 (15)
EPCN	14	14	12	40
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 (1)	1	0	4 (1)
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	0	0	2
<i>Enterococcus faecium</i>	0	0	3	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	0	1	1
<i>Escherichia coli</i>	0	1	0	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 (2)	2 (2)	3 (2)	7 (6)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (1)	3 (2)	0	4 (3)
<i>Citrobacter freundii</i>	1 (1)	0	0	1 (1)
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	1 (1)	1 (1)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	1 (1)	0	1 (1)
<i>Shewanella putrefaciens</i>	0	0	1	1
Transmisión vertical ¹	0	2	7	9
Polimicrobiana ²	5	1 (1)	3 (1)	9 (2)
Fungemia	1	3	3	7
<i>C. albicans</i>	1	2	3 ³	6*
<i>C. parapsilosis</i>	0	1	0	1
Virasis sistémicas	4	3	2	9
Citomegalovirus	3	1	2	6
Varicela	1	2	0	3
Sepsis clínica	4	11	6	21
Meningitis	0	0	2⁴	2
Infección respiratoria	10	14	4	28
Bacteriana (<i>E. cloacae</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i>)	1	5 (2)	1 (1)	7 (3)
Etiología vírica (V. influenza A, parainfluenza 3, VRS, enterovirus, metapneumovirus)	7	2	1	10
Etiología desconocida	2	7	2	11
Infección urinaria	7	5	1	13
Bacteriana (<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. faecalis</i>)	4 (2)	5	1(1)	10 (3)
<i>C. albicans</i>	3	0	0	3
Peritonitis/enterocolitis	2	2	2	6
Bacteriana (<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , enterococo)	0	1 (1)	1	2 (1)
Fúngica (<i>C. albicans</i>)	1	0	0	1
No precisada	1	1	1	3
Total infecciones	56⁵	63	52	170⁵

Entre paréntesis se indican las infecciones producidas por cepas multirresistentes. *Un niño presentó dos episodios de bacteriemia por BMR. ¹Se diagnosticaron nueve casos de infección de transmisión vertical en los que no se consiguió aislar el microorganismo por lo que la etiología se orientó en base a los cultivos maternos (*E. coli*, *S. agalactiae*, *L. monocytogenes* y especies anaerobias. ²La etiología de las bacteriemias de etiología polimicrobiana es muy variada (Estafilococo coagulasa negativa (EPCN) junto a *P. aeruginosa*, *E. faecium* o *E. faecalis*, *S. aureus* y *K. oxytoca*, *E. faecalis* y *K. oxytoca*, *E. faecalis* junto a *C. freundii* y *E. cloacae*, *E. faecium* y *E. coli*, *K. pneumoniae* y *E. aerogenes* y *K. pneumoniae* junto a *E. sakazakii*) ³Uno de los casos de fungemia por *C. albicans* se asoció a la presencia de endocarditis. ⁴Ninguno de los dos casos obedecía a una transmisión vertical; en uno de los pacientes no se llega a diagnosticar el agente etiológico responsable y en el otro está causada por un enterovirus. ⁵En uno de los niños se contabiliza por separado la bacteriemia y la infección origen de la misma.

Tabla 24: Infecciones superficiales. Localización y etiología.

Infecciones de localización superficial (niños infectados)	Primer PVA (19 niños)	Segundo (19 niños)	Tercer PVA (17 niños)	Total (55 niños)
Infecciones de catéter y relacionadas	5	2	2	9
Infección catéter (EPCN, <i>K. oxytoca</i> , enterococo)	4	0	0	4
Flebitis (<i>K. pneumoniae</i> , EPCN)	0	1	2	3
Onfalitis (<i>S. aureus</i>)	1	0	0	1
Celulitis punto inserción (etiología desconocida)	0	1	0	1
Infección de incisión quirúrgica	6	6	8	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0	1
<i>Escherichia coli</i>	0	0	2	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 (1)	1 (1)	1 (1)	3 (3)
<i>Enterobacter cloacae</i>	2 (2)	0	1 (1)	3 (3)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0	0	1
<i>Shewanella putrefaciens</i>	0	0	1	1
Polimicrobianas ¹	0	1	2 (1)	3 (1)
Etiología desconocida	1	4	1	6
Infección muco-cutánea	12	12	6	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	1	0	1
<i>Candida</i> sp.	10	10	6	26
De etiología desconocida	2	1	0	3
Conjuntivitis	10	15	7	32
Bacteriana (<i>S. aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>Proteus</i> sp, <i>S. marcescens</i>)	2 (1)	5 (2)	4 (2)	11 (5)
Fúngica (<i>C. albicans</i>)	1	0	0	1
Etiología desconocida	7	10	3	20
Total infecciones	33	35	23	91

Entre paréntesis se indican las infecciones producidas por cepas multirresistentes. EPCN: estafilococos plasmocoagulasa negativa.

¹En los tres casos de infección de la herida quirúrgica en que se aísla más de un microorganismo, se detecta *P. aeruginosa* y enterococo, *Enterobacter* sp. junto a un EPCN y *K. pneumoniae* productora de BLEE, *Enterobacter* sp. y enterococo, respectivamente.

En resumen, de estos datos correspondientes a 170 infecciones sistémicas se observa que 103 episodios (60,6 %) están causados por bacterias, 11 por hongos (6,5 %), 20 por virus (11,7 %) y en 36 episodios (21,2 %) no se llega a documentar microbiológicamente la etiología. En cuanto a las 91 infecciones superficiales, 34 pueden atribuirse a bacterias (37,3 %) y 27 a hongos (29,7 %); no se detectan infecciones víricas y en 30 episodios (33 %) no se consigue precisar la etiología.

En conjunto se detectan 261 procesos infecciosos que afectan a 92 de los 176 niños incluidos en el estudio. Si clasificamos según la etiología estos procesos: 137 (52,5 %) son de etiología bacteriana, 38 (14,5 %) fúngicas, 20 (7,7 %) de etiología vírica y en 66 (25,3 %) no se llega a diagnosticar el agente causal (ver tabla 25).

Tabla 25: Resumen de las infecciones sistémicas y superficiales. Agente etiológico¹.

Infecciones Niños infectados	Infecciones sistémicas	Infecciones superficiales	Total
Infecciones Bacterianas (% BMR)	103 (21,3 %)	34 (35,3 %)	137 (24,8 %)
Niños infectados	64	30	74
Infecciones fúngicas	11	27	38
Niños infectados	10	24	29
Niños víricas	20	0	20
Niños infectados	18	0	18
Etiología desconocida	36	30	66
Niños infectados	27	18	35
Total infecciones	170	91	261
Niños infectados	80 (20)	55 (11)	92 (30)

¹Estas infecciones hacen referencia a los 176 niños incluidos en el estudio. Entre paréntesis se indica el porcentaje de infecciones producidas por bacterias consideradas multirresistentes.

BMR: bacterias multirresistentes.

Al observar estos datos cabe destacar que el número de infecciones sistémicas es prácticamente el doble que el de las infecciones superficiales: 170 episodios (65,1 %) vs. 91 episodios (34,8 %). Esto puede deberse a la ausencia de toma de cultivos en las infecciones superficiales pero también a la mayor vulnerabilidad de estos niños y por tanto mayor predisposición a padecer infecciones sistémicas.

También resulta evidente que más de la mitad de las infecciones (52,5 %), tanto sistémicas como localizadas corresponden a infecciones bacterianas. Las infecciones fúngicas se presentan más como infecciones superficiales (muguet oral o candidiasis en el área del pañal) presentando candidemia el 4 % de los niños incluidos en el estudio en tanto que la bacteriemia se produce en 60 de los 176 niños (34,1 %).

Tradicionalmente se ha considerado a los virus como un importante agente causal de infección perinatal de transmisión vertical: citomegalovirus, enterovirus, virus de la hepatitis B, virus herpes simple, virus de la inmunodeficiencia humana y virus de la varicela zoster entre otros; en esta serie, aunque se han detectado 6 casos de infección por citomegalovirus, los virus respiratorios son los que más infecciones producen (10 episodios, 50 % de las infecciones víricas y 3,8 % de las infecciones totales).

Destaca por tanto que en estos niños las infecciones por microorganismos diferentes de bacterias han sido poco relevantes en número cediendo todo el protagonismo a las infecciones bacterianas.

El número de infecciones de etiología desconocida es sensiblemente superior en las infecciones superficiales (21,2 % vs. 33 %) quizás porque en éstas no se da tanta importancia al diagnóstico.

En el contexto de las infecciones sistémicas, aparte de la bacteriemia, la fungemia y las viriasis sistémicas puede observarse que el porcentaje de infecciones de etiología bacteriana en las infecciones respiratorias, urinarias y abdominales es del 25 %, 76,9 % y 33,3 % respectivamente con respecto a las de otras etiologías.

Al atender a las BMR, en las [tablas 23, 24 y 25](#) puede observarse que el número de infecciones sistémicas causadas por bacterias consideradas multirresistentes es de un 21 % y en lo referente a las infecciones superficiales son 12 episodios (un 35% del total) En resumen, un 25 % de las infecciones bacterianas diagnosticadas en estos niños pueden atribuirse a una BMR.

El porcentaje de BMR es mayor en las infecciones superficiales (21 % vs. 35 %) a expensas sobre todo de la infección de la incisión quirúrgica (en la mayoría de estos niños de localización abdominal tras una cirugía secundaria a la presencia de una

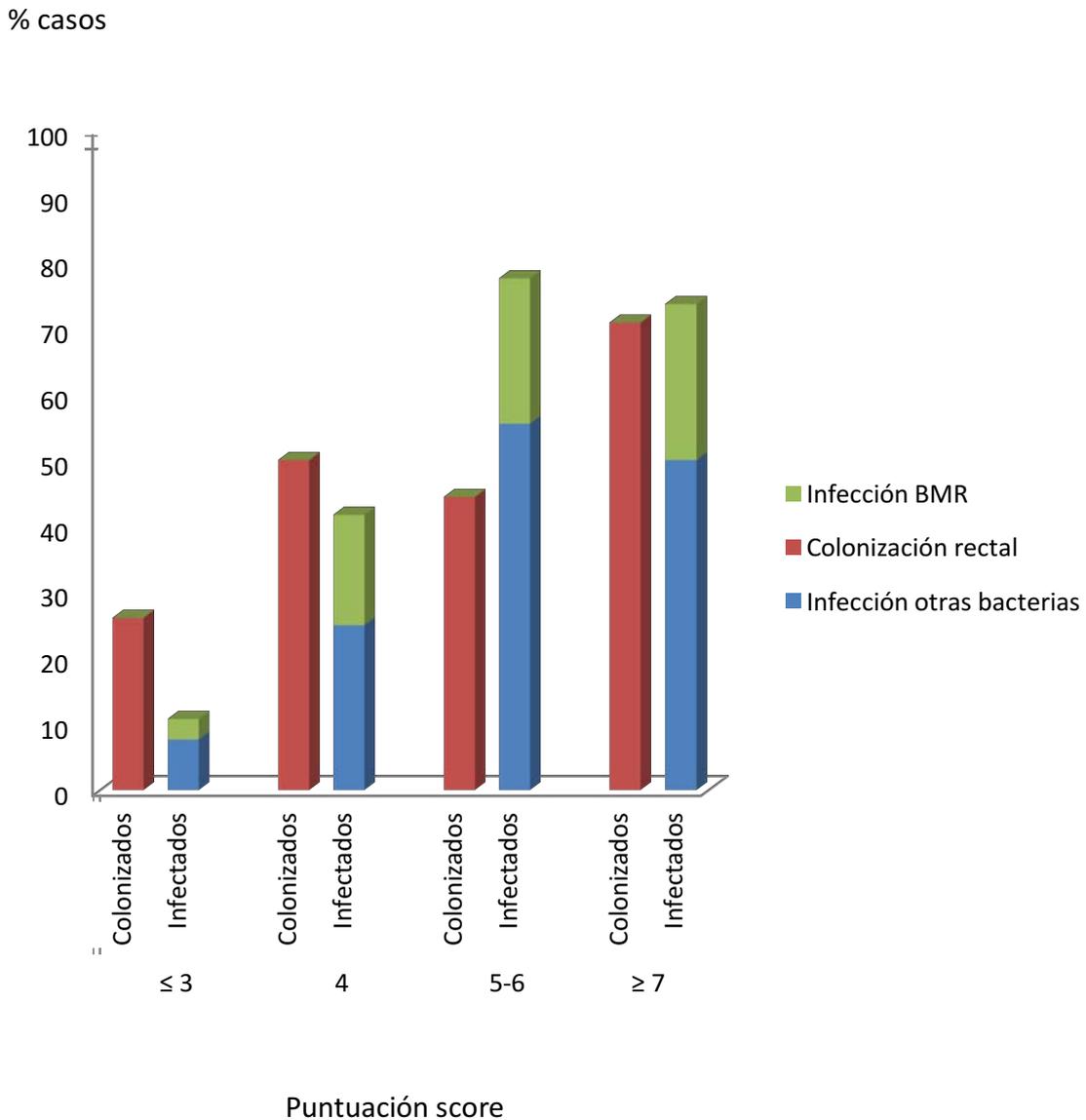
enterocolitis) y de conjuntivitis. La mayor presencia de estos multirresistentes en infecciones superficiales podría explicarse por la existencia de estos microorganismos como colonizantes transitorios de la piel y las mucosas (explicable por el entorno epidemiológico en el que se hallan), lo que favorecería que estas bacterias produjeran infección ante cualquier disrupción de la barrera cutánea o alteración de la flora propia de la conjuntiva. Este hecho no se ha podido documentar en estos pacientes.

Si descartamos las infecciones de etiología desconocida (que es más probable que no sean de etiología bacteriana) el número de infecciones bacterianas es evidentemente mucho más frecuente que el del resto de etiologías siendo del 76,3 % en las profundas y de un 55,7 % las superficiales, lo que ayuda a contextualizar la importancia del fenómeno de la multirresistencia bacteriana.

Cuando comparamos el porcentaje de BMR entre las bacteriemias y otras infecciones bacterianas sistémicas (infecciones respiratorias, urinarias y abdominales) vemos que en las primeras el 18 % están causadas por BMR en tanto que en las segundas asciende a un 37 % ($p=0,12$). Este hecho refrenda una vieja hipótesis que atribuye una menor capacidad virulenta en las bacterias resistentes debido a la limitación de que coexistan determinantes genéticos de ambos tipos en el cromosoma bacteriano, más por una cuestión de capacidad que por incompatibilidad genética(253,254).

Con el objeto de tratar de establecer un score de riesgo tanto de colonización por una BMR como de infección se escogieron 10 parámetros que pueden asociarse con riesgo de colonización o expresar una mayor vulnerabilidad de base del niño y se les dio una puntuación en función de la importancia atribuida a ese parámetro (ver anexo 5). Este score requiere ser aplicado a un mayor número de niños para poder ser validado pero nos permite hacer un primer intento de clasificación teniendo en cuenta de forma conjunta parámetros que pueden condicionar un mayor riesgo de colonización o infección.

Gráfico 5: Porcentaje de colonización rectal e infección según puntuación score de riesgo (Anexo 5).



En el gráfico 5 puede observarse la relación entre los factores facilitadores de infección y el número de niños infectados. Los resultados permiten intuir que esta relación es menos estrecha con el proceso de colonización que por tanto sería un condicionante más en la infección y no un factor determinante de la misma.

INFECCIONES POR BACTERIAS MULTIRRESISTENTES

En la tabla 25 se muestran las infecciones diagnosticadas en los 176 niños estudiados, destacando el número de infecciones causadas por BMR.

A. Infecciones por BMR en niños colonizados rectalmente

En los 90 niños colonizados por BMR se detectan 20 infecciones (22 %), en los que 16 tienen carácter sistémico y cuatro superficial tal como se muestra en la tabla 25 En esa tabla también se indican los agentes causales que incluyen *K. pneumoniae* (11 casos), *E. cloacae* (5 casos), *C. freundii* (2 casos), *E. aerogenes* (1 caso), *S. marcescens* (1 caso) y *S. maltophilia* (1 caso).

La mayor proporción de infecciones respecto a colonizaciones se da en *K. pneumoniae* y *S. marcescens*, 20 % respectivamente, seguida de *E. cloacae* y *C. freundii* (16,5 % y 15,5 % respectivamente) y *E. aerogenes* (7 %); en *S. maltophilia* la relación es del 33 % pero sólo hay tres pacientes colonizados con uno infectado. Sorprendentemente, *E. coli* y *K. oxytoca*, dos oportunistas que frecuentemente causan infección, no se detectan como multirresistentes en esta serie y evaluando el número de infecciones totales son poco relevantes (8 episodios en los que está involucrado *E. coli*: 5,8 % de las infecciones bacterianas y 3,1 % si se consideran el total de infecciones / 4 episodios por *K. oxytoca*: 2,9 % de las infecciones bacterianas y 1,5 % si se consideran el total de infecciones).

Tabla 26: Infección por BMR en niños colonizados. Localización y etiología.

Microorganismos MR ¹	Niños col. rectal muestras estudio		Niños col. rectal muestras no regladas		Niños otras colonizaciones		Niños infectados / colonizados (% niños infectados)
	Infec.	Col.	Infec.	Col.	Infec.	Col.	
<i>E. coli</i>	0	6	0	3	-	0	0 / 8 (0 %)
<i>K. pneumoniae</i> BLEE	7	42	3	23	1	22	11 / 56 (19,6 %)
<i>K. oxytoca</i>	0	2	0	1	0	1	3
<i>E. cloacae</i> AmpC	4	29	0	9 ²	1	5	5 / 30 (16,7 %)
<i>E. aerogenes</i> AmpC	1	12	0	4	0	2	1 / 14 (7,1 %)
<i>C. freundii</i> AmpC	2	11	0	2	-	0	2 / 13 (15,4 %)
<i>S. marcescens</i>	0	1	-	0	1	3	1 / 4 (25 %)
<i>P. vulgaris</i> BLEE	0	1	-	0	-	0	0 / 1
<i>C. braaki</i> AmpC	0	0	-	1	-	0	0 / 1
<i>P. aeruginosa</i>	0	1	-	0	-	0	0 / 1
<i>S. maltophilia</i>	1	3	-	0	-	0	1 / 3 (33,3 %)
<i>A. baumannii</i>	0	1	-	0	-	0	0 / 1
Total niños (% infectados)	14³ (17 %)	80	3 (9 %)	32	3 (10 %)	29	20 / 90⁴ (22 %)

Para poner en contexto esta tabla cabe indicar que el total de niños estudiados en este trabajo es de 176.

¹MR: multirresistente. BLEE: Betalactamasa de espectro expandido; AmpC: Hiperproducción de la betalactamasa cromosómica de tipo AmpC. En *K. oxytoca* se aísla una cepa con hiperproducción de su enzima cromosómica de clase A (K1) y otro con una BLEE. ²Dos de los niños colonizados por *E. cloacae* presentan esta colonización únicamente en el 2º IP antes de ser incorporados al estudio. ³Uno de los niños presentó infección por *K. pneumoniae* y *E. aerogenes*. ⁴Treinta y siete niños están colonizados por más de una especie bacteriana multirresistente (26 por 2 microorganismos, 8 por 3 microorganismos y 3 por 4 microorganismos).

Klebsiella pneumoniae BLEE produce shock séptico, bacteriemia, peritonitis, conjuntivitis, infecc. herida quirúrgica e infección urinaria. *Enterobacter cloacae* produce bacteriemia, empiema, infección de herida quirúrgica y celulitis. *Enterobacter aerogenes* produce conjuntivitis. *Citrobacter freundii* cursa con bacteriemia. Se aísla *Serratia marcescens* y *Stenotrophomonas maltophilia* en sendos niños con sepsis.

En los 86 niños no colonizados por BMR se detectan 10 infecciones (11,6 %), en los que 6 tienen carácter sistémico y cuatro superficial tal como se muestra en la tabla 27. En esa tabla también se indican los agentes causales que incluyen *K. pneumoniae* (3 casos), *E. cloacae* (3 casos), *S. marcescens* (3 casos) y *S. aureus* (1 caso).

No se detecta ni previa ni posteriormente colonización por estos microorganismos. Esta observación es sorprendente ya que se acepta que toda infección bacteriana debería ir precedida por una colonización de mayor o menor duración y que en este caso, según nuestro protocolo, no puede evidenciarse.

Tabla 27: Infección por BMR en niños no colonizados. Localización y etiología.

Nº caso	BMR	Días ingreso previo	Cultivos vigilancia previos	Coloniz. otra BMR ¹	Tipo de infección	Cultivos de vigilancia posteriores	Score
169A	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	11 d	2	No	Bacteriemia	0	5
153UCIAs-F	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	32 d	4	No	Inf. herida quirúrgica	0	4
173C	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	18 d	1	No	Inf. herida quirúrgica	0	5
97E	<i>E. cloacae</i> AmpC	13 d	1	Sí (Kpn)	Sepsis	5	9
101B-C	<i>E. cloacae</i> AmpC	19 d	1	Sí (Ecl otros clones; Eco y Eae)	Inf. respiratoria	5	8
15ABA	<i>E. cloacae</i> AmpC	51 d	5	Sí (Ecl otros clones y Kpn)	Conjuntivitis	1	8
79C-A-D	<i>S. marcescens</i>	165 d	5	Sí (Ecl y Kpn)	Neumonía	0	6
157A	<i>S. marcescens</i>	11 d	2	Sí (Kpn)	Inf. urinaria	1	5
139UCIAs	<i>S. marcescens</i>	6 d	2	No	Conjuntivitis	0	1
41A	SARM	92 d	1	No	Sepsis	1	10

Para poner en contexto esta tabla cabe indicar que el total de niños estudiados en este trabajo es de 176. Tanto los cultivos de vigilancia previos como los posteriores fueron negativos.

¹En 10 de los 86 niños en los que no se detectó colonización por BMR se diagnosticó una infección por una de estas bacterias (BMR). Se considera todo tipo de colonización por multirresistentes (rectal y extrarrectal). Kpn: *K. pneumoniae*, Ecl: *E. cloacae*, Eae: *E. aerogenes* y Eco: *E. coli*. MR: multirresistente. BLEE: Betalactamasa de espectro expandido; AmpC: Hiperproducción de la betalactamasa cromosómica de tipo AmpC. En *K. oxytoca* se aísla una cepa con hiperproducción de su enzima cromosómica de clase A (K1) y otro con una BLEE.

Así pues se puede concluir a modo de resumen que el 52 % de los niños ingresados durante el periodo de estudio presentan algún tipo de infección. Las infecciones bacterianas más frecuentes serán la bacteriemia (61,3 %) seguida de la de la infección de herida quirúrgica -generalmente secundaria a una cirugía por un proceso de enterocolitis necrotizante (10,2 %) y de la conjuntivitis (8 %). Si nos centramos en las infecciones causadas por una BMR, en nuestra serie el 17 % de los niños ingresados se verán afectados por éstas. En orden de frecuencia sigue siendo la bacteriemia la que ocupa el primer lugar (44,1 %), seguida también de la infección de herida quirúrgica (29,2 %) y de la conjuntivitis (20,8 %) (ver tabla 28).

Tabla 28: Infecciones bacterianas.

Tipo de infección	Infecciones por un BMR	Total de Infecciones	% de infecciones por BMR respecto al total
Bacteriemia	15	84	17,8 %
Inf. catéter y relacionadas (flebitis, onfalitis)	0	8	0
Meningitis ²	0	0	0
Inf. respiratoria	3	7	42,8 %
Inf. urinaria	3	10	30 %
Peritonitis / enterocolitis	1	2	50 %
Inf. herida quirúrgica	7	14	50 %
Inf. muco-cutánea	0	1	0
Conjuntivitis	5	11	45,4 %
Nº infecciones	34	137	24,8 %

¹ Uno de los niños presentó dos episodios diferenciados en el tiempo por la misma BMR. ² Aunque se diagnosticaron de meningitis dos niños, en uno de los pacientes no se llega a detectar el agente etiológico responsable y en el otro esta está causada por un enterovirus.

B. Características y evolución de los niños infectados por BMR.

En la tabla 29 se presentan algunas de las características de los pacientes infectados por una BMR.

Tabla 29: Principales datos referidos a la evolución de los niños infectados por una BMR.

Nº caso	Microorganismos MR	Días ingreso previo	Días ingreso post.	Días tratamiento antibiótico inmediatamente previo	Tipo de infección	Perfil sensibilidad	Score	Tratamiento antibiótico posterior	Evolución
37C	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	23 d	0 d	0 d	Shock séptico (2º ingreso UCIP)	-	1	0 d (2º ingreso UCI)	Exitus
42C	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	310 d	2 d	PTZ (3 d)	Shock séptico	PTZ ^{S BLEE}		MER+VAN+AK 2 d	Exitus
83F-A	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	36 d	19 d	CTX + VAN (5 d stop 4 d antes)	Sepsis (Kpn + Eae)	CTX ^R	4	MER (9 d) + VAN (2 d)	Exitus
61D	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	10 d	59 d	CTX (8 d)	Bacteriemia	CTX ^R	7	CTX + VAN + AK (2 d) + MER (12 d)	Curación
62D	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	10 d	86 d	CTX + VAN (2 d)	Bacteriemia	CTX ^R	7	CTX (1 d)→MER (10 d) + VAN (2 d) + AK (1 d)	Curación
138UCIAs	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	40 d	13 d	CFU (1 d stop 1 s antes)	Bacteriemia	CFU ^R	7	VAN (1 d) + CTX (2 d)→MER (10 d) + AK (1 d)	Curación
169A	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	11 d	39 d	CTX + VAN (1 d)	Bacteriemia	CTX ^R	2	CTX + VAN (1 d) + AK (1 + 5 d) + MER (17 d)	Exitus
17D	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	92 d	17 d	0 d	ITU	-	11	0 d	Curación
19A	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	150 d (16 d otro centro)	34 d	-	ITU (2º ingreso UCIP)	-	6	0 d (2º ingreso UCI)	Curación
54D	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	8 d	17 d	CTX + AK + MET (5 d)	Infec. herida quirúrgica	CTX ^R / AK ^S	7	CTX + MET (3 d) + AK (2 d) + VAN (7 d)	Curación
153UCIAs	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	32 d	22 d	PTZ + VAN (1 d) (AMP + CTX 6 d stop 11 d antes)	Infec. herida quirúrgica	PTZ ^{S BLEE}	7	PTZ (4 d)→AK (4d) + VAN (10 d)	Curación
173C	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	18 d	38 d	CTX + VAN (12 d)	Infec. herida quirúrgica	CTX ^R	5	CTX + VAN (5 d)→AK + SXT (14 d)	Curación
64A-B-D-A	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	17 d	99 d	MER (3 d) + VAN (13 d) + CTX (1 d stop 3 d antes + FLU (8 d)	Conjuntivitis, peritonitis, infec. herida quirúrgica	MER ^S	10	MER + VAN (19 d)	Curación
158A	<i>K. pneumoniae</i> BLEE	12 d	26 d	-	Conjuntivitis	-	3	-	Curación

MR: multirresistente. BLEE: Betalactamasa de espectro expandido; AmpC: Hiperproducción de la betalactamasa cromosómica de tipo AmpC. En *K. oxytoca* se aísla una cepa con hiperproducción de su enzima cromosómica de clase A (K1) y otro con una BLEE. Kpn: *K. pneumoniae*, Eae: *E. aerogenes*, ECN: enterocolitis necrotizante, ITU: infección del tracto urinario. UCIP: Unidad de cuidados intensivos pediátricos, CMV: citomegalovirus, AFB: anfotericina B, AK: amikacina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, AMP: ampicilina, CFU: cefuroxima, CTX: cefotaxima, FOX: cefoxitina, FLU: fluconazol, GAN: ganciclovir; MER: meropenem, MET: metronidazol, PTZ: piperacilina-tazobactam, SXT: cotrimoxazol, VAN: vancomicina. →Sustitución de un antimicrobiano por otro. ^{S BLEE} Sensible pero no recomendado por la presencia de producción de una BLEE, ^{S R ind.} Sensible pero no recomendado por la presencia de un enzima de tipo AmpC inducible.

Cont. tabla 29: Principales datos referidos a la evolución de los niños infectados por una BMR.

Nº caso	Microorganismos MR	Días ingreso previo	Días ingreso post.	Días tratamiento antibiótico inmediatamente previo	Tipo de infección	Perfil sensibilidad	Score	Tratamiento antibiótico posterior	Evolución
97E	<i>E. cloacae</i> AmpC	13	52	CTX + VAN (4 d)	Sepsis	CTX ^R	9	VAN (6 d)+ AK (1 d) + MER (11 d)	Curación
63A-D	<i>E. cloacae</i> AmpC	8	134	AMP + CTX (5 d, stop 3 d antes) + CLX (1 d)	Bacteriemia	CTX ^R	10	VAN (16 d) + AK (1 d) + CTX (2 d)→MER (26 d)	Curación
91B-D	<i>E. cloacae</i> AmpC	17	39	CTX (6 d, stop 3 d antes) + VAN (7 d) + AFB (4 d)	Empiema	CTX ^R	5	VAN (11 d) + AFB (4 d) + PTZ (1 d) →MER (9 d)	Curación
101B-C	<i>E. cloacae</i> AmpC	19	98	CTX + AK (1 d, stop 4 d antes) + VAN 11 d + AFB (4 d)	Infec. respiratoria	CTX ^R / AK ^S	8	CTX + AK (5 d)	Curación
8A	<i>E. cloacae</i> AmpC	76	3	VAN (19 d, stop 5 d antes) + MER (9 d, stop 5 d antes) + AK (1 d, stop 5 d antes) + AFB (14 d)	Infec. herida quirúrgica (+ fungemia 3 d antes)	CTX ^R / MER ^S / AK ^S	9	AFB (2 d) + 5FC (1 d) + CTX + AK (1 d)	Exitus
28F	<i>E. cloacae</i> AmpC	37	111	AK + CTX (6 d, stop 8 d antes) + FOX (6 d) + FLU (17 d) + VAN (10 d)	Infec. herida quirúrgica	FOX ^{S BLEE} / CTX ^R / AK ^S	11	FOX (4 d) + FLU (2 d) + VAN (10 d)	Curación
115C	<i>E. cloacae</i> AmpC	23	30	AMP (4 d) + CTX + MET (4 d)	Celulitis pared abdominal	CTX ^R	7	AMP (1 d) + CTX + MET (2 d) →MER (12 d) + VAN (11 d)	Curación
15A-B-A	<i>E. cloacae</i> AmpC	41	70	-	Conjuntivitis	CTX ^R	8	-	Curación
83F.A	<i>E. aerogenes</i> AmpC	-	-	-	Conjuntivitis (niño sepsis por Kpn)		7	-	-
1E-F	<i>C. freundii</i> AmpC	26	100	FOX (8 d, stop 1 s antes) + CTX (4 d, stop 3 d antes) + VAN (17 d) + AFB (11 d)	Bacteriemia	CTX ^R	10	AFB (12 d) + VAN + AK + CTX (2 d) + MER 12 d	Curación
159UCIAs	<i>C. freundii</i> AmpC	17	75	AMP (6 d, stop 11 d antes) + CTX (3 d, stop 14 d antes)→GEN (7 d, stop 7 d antes) + VAN (8 d, stop 4 d antes)	Bacteriemia	CTX ^R / GEN ^S	9	VAN (17 d)+ CTX (2 d) + AK (3 d) + MER (9 d)	Curación

MR: multirresistente. BLEE: Betalactamasa de espectro expandido; AmpC: Hiperproducción de la betalactamasa cromosómica de tipo AmpC. En *K. oxytoca* se aísla una cepa con hiperproducción de su enzima cromosómica de clase A (K1) y otro con una BLEE. Kpn: *K. pneumoniae*, Eae: *E. aerogenes*, ECN: enterocolitis necrotizante, ITU: infección del tracto urinario. UCIP: Unidad de cuidados intensivos pediátricos, CMV: citomegalovirus, AFB: anfotericina B, AK: amikacina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, AMP: ampicilina, CFU: cefuroxima, CTX: cefotaxima, FOX: cefoxitina, FLU: fluconazol, GAN: ganciclovir; MER: meropenem, MET: metronidazol, PTZ: piperacilina-tazobactam, SXT: cotrimoxazol, VAN: vancomicina. →Sustitución de un antimicrobiano por otro. ^{S BLEE} Sensible pero no recomendado por la presencia de producción de una BLEE, ^{S R ind.} Sensible pero no recomendado por la presencia de un enzima de tipo AmpC inducible.

Cont. tabla 29: Principales datos referidos a la evolución de los niños infectados por una BMR.

Nº caso	Microorganismos MR	Días ingreso previo	Días ingreso post.	Días tratamiento antibiótico inmediatamente previo	Tipo de infección	Perfil sensibilidad	Score	Tratamiento antibiótico posterior	Evolución
119UCIAs	<i>S. marcescens</i>	18	32	AMP + GEN (11 d, stop 1 s antes) → CTX (6 d, stop 2 d antes) + VAN (7 d)	Sepsis	CTX ^{S^Rind}	6	VAN (2 d) + PTZ (4 d) + MER (10 d)	Curación
79C-A-D	<i>S. marcescens</i>	165 (2 d otro centro)	0	VAN 82 d, stop 4 d antes) + MER (4 d, stop 3 d antes) + AMC (3 d)	Neumonía	CTX ^{S^Rind} , MER ^S	6	0 d	<i>Exitus</i>
157A	<i>S. marcescens</i>	11	54	0 d (C1G 1 d, 9 d antes)	Infección urinaria	CTX ^{S^Rind}	5	CTX + VAN (6 d)	Curación
139UCIAs	<i>S. marcescens</i>	6	1	-	Conjuntivitis	-	1	-	Curación
69F-A-B	<i>S. maltophilia</i>	76 (32)	37	MER + VAN (11 d)	Sepsis	MER ^R	9	MER + VAN (4 d) + AK (1 d) + SXT (8 d)	Curación
41A	SARM	92 (16 d otro centro)	2	GAN (39 d)	Sepsis (+ ECN por CMV)	-	10	GAN (1 d)	<i>Exitus</i>
Total	30 niños	21*	35.5*	12.5d*	14 bacteriemias 3 infecc. respiratorias 3 infecc. urinarias 1 peritonitis 7 infecc. incisión quirúrgica 5 conjuntivitis		7* RIQ (5-9)	11.5d*	23 curaciones 7 exitus

MR: multirresistente. BLEE: Betalactamasa de espectro expandido; AmpC: Hiperproducción de la betalactamasa cromosómica de tipo AmpC. En *K. oxytoca* se aísla una cepa con hiperproducción de su enzima cromosómica de clase A (K1) y otro con una BLEE. SARM: Staphylococcus aureus resistente a meticilina; Kpn: *K. pneumoniae*, Eae: *E. aerogenes*, ECN: enterocolitis necrotizante, ITU: infección del tracto urinario. UCIP: Unidad de cuidados intensivos pediátricos, CMV: citomegalovirus, AFB: anfotericina B, AK: amikacina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, AMP: ampicilina, CFU: cefuroxima, CTX: cefotaxima, FOX: cefoxitina, FLU: fluconazol, GAN: ganciclovir; MER: meropenem, MET: metronidazol, PTZ: piperacilina-tazobactam, SXT: cotrimoxazol, VAN: vancomicina. →Sustitución de un antimicrobiano por otro. ^{S^{BLEE}}Sensible pero no recomendado por la presencia de producción de una BLEE, ^{S^Rind}Sensible pero no recomendado por la presencia de un enzima de tipo AmpC inducible. *Datos expresados en forma de mediana. RIQ: rango intercuartílico.

Tal como se observa en la [tabla 30](#) que compara las características de los niños infectados por BMR y los infectados por otras bacterias se detectan diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de pacientes con infección y los pacientes no infectados en cuanto a la duración total del ingreso, el porcentaje de niños colonizados rectalmente y la toma y duración del tratamiento antibiótico. Además se observan diferencias estadísticamente significativas en la evolución (curación y mortalidad) entre el grupo de niños infectados por bacterias MR y los niños no infectados. Por otro lado, existen diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de pacientes con infección y los pacientes no infectados, así como entre los dos grupos de pacientes infectados. No se observan diferencias en cuanto a otros parámetros señalados en la tabla como son el porcentaje de niños policolonizados en los diferentes grupos y tampoco en cuanto a la necesidad de reingreso el primer mes tras el alta. Es destacable el mayor porcentaje de niños colonizados en los dos grupos de infectados no existiendo diferencias entre ambos pero sí con el grupo de no infectados. Así el factor infección parece ser más dependiente del estado general del niño que de la presencia de colonización. Lo que sí es objetivable es el menor porcentaje de curación y la mayor presencia de complicaciones en el grupo de infectados por una BMR que hace que reingresen en el hospital hasta en un 25 % de los casos. Como ya se ha mencionado, la mortalidad también es superior en este grupo pero esta no está condicionada de forma única por la infección; es decir, la infección es una complicación entre otras por lo que no se le puede atribuir el que sea la causa principal del desenlace de estos niños.

Tabla 30: Datos referidos a la evolución de los niños.

Características (n=172 niños) ¹	Infectados BMR (n=27)	Infectados otras bacterias (n=52)	No infectados (n=93)	P
Duración ingreso uci	50 d (4-131 d)	32 d (2-147d)	5 d (1-203d)	<0,05****
Duración total ingreso	79d (24-312 d)	63 d (2-181 d)	13 d (2-226 d)	<0,05*
Colonización rectal ²	16 (59,2 %)	32 (61,5 %)	29 (31,2 %)	<0,05*
Policolonización ³	2 (7,4 %)	5 (9,6 %)	2 (2,1 %)	0,13
Tratamiento antibiótico	27 (100 %)	52 (100 %)	65 (69,9 %)	<0,05*
Duración	13 d (1-89 d)	22 d (0-111 d)	3 d (0-68 d)	<0,05*
Curación	20 (74,1 %)	48 (92,3 %)	88 (94,6 %)	<0,05***
Reingreso primer mes	5 (25 %)	5 (10,4 %)	4 (4,5 %)	0,06
Exitus ⁴	7 (25,9 %)	4 (7,7 %)	5 (5,4 %)	<0,05***

Datos expresados en mediana de días y rango.¹No se incluyen en esta tabla los datos de cuatro niños afectados exclusivamente por una infección vírica.²Se tiene en cuenta la colonización rectal por el microorganismo causante de infección, no cualquier colonización rectal ya que seis niños están colonizados rectalmente pero por otros microorganismos diferentes. En el grupo de niños infectados por MR se mide la duración del tratamiento antibiótico previa a la infección; en los otros dos grupos esta medición es hasta el alta.³La policolonización se refiere a la presencia de más de una especie bacteriana colonizando a un mismo niño.⁴La gravedad de las patologías de base y el mal pronóstico a corto plazo hace que muchos de estos niños fallezcan coincidiendo con la infección pero por limitación del esfuerzo terapéutico lo que no permite diferenciar con exactitud que muertes están relacionadas con estas infecciones y cuáles no.

* Existen diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de pacientes con infección y los pacientes no infectados

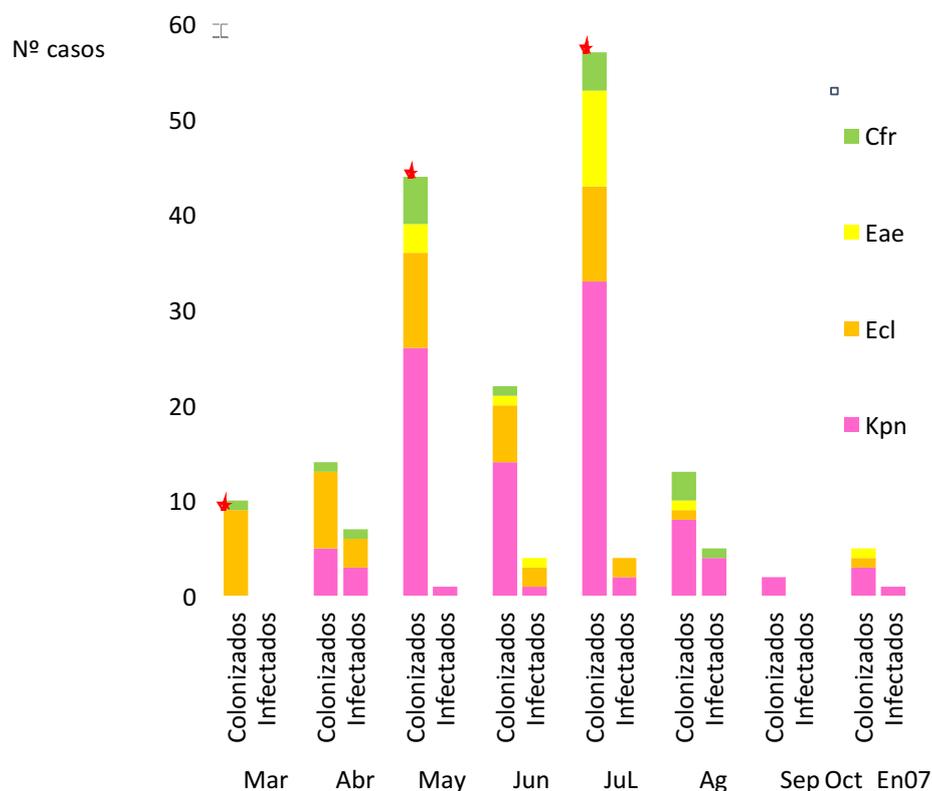
** Existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de niños infectados por bacterias no MR y los niños no infectados

*** Existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de niños infectados por BMR y los niños no infectados

**** Existen diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de pacientes con infección y los pacientes no infectados, así como entre los dos grupos de pacientes infectados

En el gráfico 6, si observamos la presencia mensual de niños colonizados y el número de estos en que se detecta infección se ve como la búsqueda dirigida detecta un mayor número de niños colonizados tal y como es previsible aunque este factor se ve distorsionado por la aparición del brote causado por *K. pneumoniae* BLEE. No se pueden comparar entre sí los distintos meses ya que desconocemos el porcentaje real de niños colonizados en los periodos fuera del estudio. En estos periodos la búsqueda está más dirigida a niños con algún factor de riesgo que justifique el conocimiento de la flora colonizante. El bajo número de infecciones causadas por las BMR detectadas (ningún mes superior a 6 casos) no permite establecer si a mayor número de niños colonizados se produce un mayor número de infecciones y tampoco si la detección universal en la unidad de todas las colonizaciones permite, por las medidas higiénicas aplicadas, disminuir las infecciones en estos niños.

Gráfico 6: Evolución mensual de los casos de colonizados / infectados.



Sólo se tienen en cuenta las cuatro especies más prevalentes: Cfr: *Citrobacter freundii*; Eae: *Enterobacter aerogenes*; Ecl: *Enterobacter cloacae*; Kpn: *Klebsiella pneumoniae*. Se señalan con una estrella los meses en que se realiza vigilancia activa de la colonización rectal como parte del estudio.

En cuanto al análisis de todos aquellos factores que podrían condicionar la colonización rectal (tabla 31) se puede afirmar que se colonizan más los niños nacidos antes de la semana 30 de gestación. También se observan estas diferencias en aquellos niños con un peso entre 501-1000 g. y 2001-2500 g. Como cabe esperar, el porcentaje de colonización es superior si el niño posee un hermano colonizado (partos múltiples). Se observan diferencias en cuanto al porcentaje de niños que reciben lactancia materna en el grupo de los niños colonizados; este tradicionalmente se ha considerado un factor protector y el hecho de esta desviación puede ser una consecuencia de la necesidad de extremar los cuidados en este grupo de mayor riesgo de patología en el que las madres se esfuerzan por alimentar a los niños de forma natural tratando así de aportarles los beneficios de la leche materna. También se observan diferencias en cuanto al porcentaje de niños con nutrición parenteral y sonda nasogástrica en los niños colonizados. Si analizamos la toma de antibióticos, estos niños reciben más antibióticos que el grupo de niños que no colonizados. La duración de los tratamientos no se pueden comparar entre

ambos grupos porque en el grupo de niños colonizados se tiene en cuenta los días previos a la colonización y en el de no colonizados el total de días que reciben tratamiento. No existen diferencias en cuanto al antecedente de toma de antibiótico por parte de la madre ni en el mes previo ni intraparto salvo cuando la pauta recibida es la combinación de una penicilina y un aminoglucósido.

Tabla 31: Posibles factores condicionantes de colonización rectal.

Característica (n=176 niños)	Niños colonizados (n=86)	Niños no colonizados (n=90)	p
Sexo: Masculino	54 (62,8 %)	45 (50 %)	0,10
Edad gestacional [†] : 24-29 sem.	14 (46,7 %)	20 (22,2 %)	0,34
30-36 sem.	6 (20 %)	40 (44,4 %)	<0,05
>36 sem.	10 (33,3 %)	30 (33,3 %)	<0,05
Peso: ≤ 500 g.	1 (1,2 %)	0	0,50
501-1000 g.	34 (39,5 %)	15 (16,7 %)	<0,05
1001-1500 g.	15 (17,4%)	10 (11,1 %)	0,28
1501-2000 g.	7 (8,1%)	13 (14,4 %)	0,24
2001-2500 g.	6(7%)	18 (20 %)	<0,05
> 2500 g.	23 (26,7 %)	34 (37,8 %)	0,13
Tipo de parto: vaginal	34 (39,5 %)	49 (54,4 %)	0,05
APGAR al nacimiento <5 [†]	17 (20 %)	13(14,8 %)	0,42
Ingreso madre preparto > 1d [†]	41 (48,2 %)	32 (35,5%)	0,13
Procedencia externa ¹	16 (18,6 %)	17 (18,9 %)	1
Duración estancia previa a la coloniz. ²	7 d (0-64 d)	4 d (1-62 d)	NC
Edad >1 día al ingreso en UCIN	6 (7 %)	7 (7,8 %)	1
Gemelos o trillizos	18 (20,9 %)	12 (13,3 %)	0,25
Hermano colonizado	16 (18,6 %)	2 (2,2 %)	<0,05
Malformaciones o S. malformativos	12 (13,9 %)	14 (15,5 %)	0,83
Nutrición enteral:			
Lactancia materna	70 (81,4 %)	47 (52,2 %)	<0,05
Nutrición parenteral	67 (77,9 %)	38 (42,2 %)	<0,05
Duración	14 d (3-100 d)	9,5 d (1-48 d)	<0,05
Sonda nasogástrica	84 (97,7 %)	75 (83,3 %)	<0,05
Duración	54 d (1-297 d)	8 d (1-134 d)	<0,05
Receptores de antibiótico:			
Niño	77 (89,5 %)	67 (74,4 %)	<0,05
Duración ³	12d (0-101 d)	7 d (1-93 d)	NC
BL de espectro reducido ⁴	73 (84,9 %) / 6 d	19 (21,1 %) / 4d	<0,05
Antibiótico con efecto anaerobicida ⁵	35 (40,7 %) / 11 d	11 (12,2 %) / 8 d	<0,05
Cefotaxima	63 (73,2 %) / 10 d	32 (35,5 %) / 6d	<0,05
Cefotaxima + aminoglucósido	1 (1,2 %)	0	0,49
Carbapenem	25 (29,1 %) / 10 d	5 (5,5 %) / 7 d	<0,05
Madre:	39 (45,9 %)	42 (46,7 %)	0,88
Mes previo	17 (20 %)	16 (17,8 %)	0,85
Intraparto	34 (40 %)	39 (43,3 %)	0,65
Betalactámico de espectro reducido	11 (12,8 %)	21 (23,3 %)	0,08
Amoxicilina-ác. clavulánico	3 (3,5 %)	2 (2,2 %)	0,68
Betalactámico + aminoglucósido	15 (17,4 %)	6 (6,7 %)	<0,05
Clindamicina + aminoglucósido	3 (3,5 %)	2 (2,2 %)	0,68
Eritromicina	10 (11, 6%)	15 (16,7 %)	0,40

[†] Señala aquellos casos en los que no se dispone de información respecto a ese parámetro en el total de los niños. ¹Sólo se puede documentar colonización nada más ingresar en cinco de estos 16 niños. ² En la duración de la estancia previa a la colonización sólo se tienen en cuenta los días en que el niño está ingresado dentro del periodo de estudio. ³ En los niños colonizados sólo se tienen en cuenta los antibióticos y días previos a la aparición de la colonización. Tres niños presentaron este tipo de aislamientos antes de recibir tratamiento antibiótico por primera vez. En la toma y duración del tratamiento antibiótico en los niños colonizados se tiene en cuenta el periodo previo a la aparición de cualquier tipo de muestra positiva a una bacteria multirresistente considerada en el estudio. ⁴Betalactámico de espectro reducido: penicilina, ampicilina, amoxicilina, cloxacilina, cefalosporina de primera generación y/o cefuroxima. ⁵Antibióticos con efecto anaerobicida: cefoxitina, amoxicilina-ácido-clavulánico, piperacilina-tazobactam, meropenem y metronidazol. NC: No comparable.

En lo que respecta a los factores condicionantes de infección, se han clasificado los niños según presenten infección sistémica por BMR, por otro tipo de bacterias no multirresistentes o no presentan infección. Ocho niños que sólo se vieron afectados por una conjuntivitis o por una candidiasis muco-cutánea se incluyen dentro del grupo de no infectados. Se excluyeron del análisis cuatro niños que presentaron una infección sistémica vírica por considerar que no podían incluirse en ninguno de los tres grupos mencionados y tampoco tener suficiente entidad para constituir un grupo individual en el análisis (tabla 32).

Cabe destacar, como era de esperar, que en la serie estudiada también son más frecuentes las infecciones en el grupo de niños muy prematuros y/o con un extremado bajo peso al nacimiento. También se encuentran diferencias significativas en cuanto a la mortalidad, mayor en el grupo de niños infectados por BMR con respecto a los otros dos grupos.

Otras diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de pacientes con infección y los pacientes no infectados en cuanto a la edad gestacional y el bajo peso, así como en cuanto al porcentaje de colonización, la patología neurológica de base entendiendo como tal aquella patología relacionada con la gran prematuridad (encefalopatía hipóxico-isquémica o hemorragia intraventricular) y la necesidad de catéteres, nutrición parenteral, ventilación mecánica, sonda urinaria o intervención quirúrgica.

Con el objeto de tratar de minimizar los principales aspectos que causan confusión en el análisis se han calculado los mismo parámetros pero sólo en aquellos niños con un peso al nacimiento igual o superior a 1500 gramos (tabla 33). Esto nos permite observar que siguen sin existir diferencias en los factores que pueden condicionar infección independientemente de que el agente causal sea una BMR o no; existe diferencia en la presencia de colonización rectal entre ambos grupos de infectados a favor del grupo de infectados por una BMR y también se mantiene en la necesidad de ventilación mecánica, sonda urinaria, infección quirúrgica y en la duración de la cateterización y de la nutrición parenteral entre el grupo de niños infectados (independientemente del tipo de bacteria) y los niños no infectados. En este caso ya no se observan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la mortalidad.

Tabla 32: Factores condicionantes de infección y otros datos relacionados con esta.

Característica (n=172 niños [†])	Niños infectados BMR (n=27)	Niños infectados otras bacterias (n=52)	Niños no infectados (n=93)	P
Sexo: masculino	14 (51,9 %)	33 (63,5 %)	49 (52,7 %)	0,41
Edad gestacional [†] : 24-29 sem.	13 (48,2 %)	31 (59,6 %)	21 (22,8 %)	<0,05*
30-36 sem.	5 (18,5 %)	12 (23,1%)	38 (41,3 %)	<0,05
>36 sem.	9 (33,3 %)	9 (17,3 %)	33 (35,9 %)	0,06**
Peso: ≤ 500 g.	0	0	1 (1,1 %)	0,65
501-1000 g.	13 (48,1 %)	23 (44,2 %)	11 (11,8 %)	<0,05*
1001-1500 g.	2 (7,4 %)	10 (19,2 %)	12 (12,9 %)	0,32
1501-2000 g.	2 (7,4 %)	5 (9,6 %)	13 (14 %)	0,56
2001-2500 g.	1 (3,7 %)	3 (5,8 %)	20 (21,5 %)	<0,05*
> 2500 g.	9 (33,4 %)	11 (21,1 %)	36 (38,7 %)	0,09
Tipo de parto: vaginal	11 (40,7 %)	22 (42,3 %)	47 (50,5 %)	0,51
cesárea	16 (59,3 %)	30 (57,7 %)	46 (49,5 %)	0,51
Apgar al nacimiento <5 [†]	3 (11,5 %)	11 (21,6 %)	15 (16,3 %)	0,51
Gemelos o trillizos	4 (14,8 %)	11 (21,1 %)	15 (16,3 %)	0,69
Colonización rectal	22 (81,5 %)	33 (63,5 %)	29 (31,2 %)	<0,05*
Motivo de ingreso				
Prematuridad	17 (63 %)	41 (78,8 %)	55 (59,1 %)	0,05**
Bajo peso	3 (11, 1 %)	7 (13,5 %)	10 (10,7 %)	0,88
S. Aspiración meconial	2 (7,4 %)	0	11 (11,8 %)	<0,05**
Otras complicaciones intraútero	4 (14,8 %)	17 (32,7 %)	30 (32,2 %)	0,18
Riesgo de infecc. de transmisión vertical	7 (25,9 %)	14 (26,9 %)	22(23,6 %)	0,90
Enf. Membrana hialina o SDR idiopático	16 (59,2 %)	36 (69,2 %)	47 (50,5 %)	0,09
Malformaciones o S. malformativos	10 (37 %)	9 (17,3 %)	9 (9,7 %)	<0,05***
Cardiopatía congénita	7 (25,9 %)	15 (28,8 %)	13 (14%)	0,08
Paro cardiorrespiratorio	0	0	1 (1,1 %)	0,65
Otras patologías de base:				
Neurológicas	11 (40,7 %)	23 (44,2 %)	13 (14 %)	<0,05*
Cardiacas	10 (37 %)	11 (21,1 %)	9 (9,7 %)	<0,05***
Enterocolitis necrotizante	9 (33,3 %)	8 (15,4 %)	1 (1,1 %)	<0,05*
Insuf. renal aguda	4 (14,8 %)	7 (13, 5 %)	4 (4,3 %)	0,08
Alt. hematológicas no rel. con prematuridad	7 (25,9 %)	7 (13,5 %)	9 (9,7 %)	0,09
Otras	3 (11,1 %)	12 (23,1 %)	2 (46,5 %)	<0,05**
Catéter umbilical	22 (81,5 %)	42 (80,8 %)	43 (46,2 %)	<0,05*
Duración	3 d (1-10 d)	3 d (1-11 d)	2 d (1-12 d)	<0,05*
Otro tipo de cat. centrales	26 (96,3 %)	52 (100 %)	61 (65,6 %)	<0,05*
Duración	33 d (3-97 d)	23 d (1-103 d)	7d (1-98 d)	<0,05*
Nutrición parenteral	22 (81,5 %)	46 (88,5 %)	34 (36,6 %)	<0,05*
Duración	21 d (6-77 d)	14 d (1-100 d)	8d (2-93 d)	<0,05*
Ventilación mecánica	25 (92,6 %)	46 (88,5 %)	36 (38,7 %)	<0,05*
Días	16 d (1-84 d)	9 d (1-66 d)	3 d (1-42 d)	<0,05*
Sonda urinaria [†]	19 (70,4 %)	19 (37,2 %)*	15 (16,1 %)	<0,05****
Intervención quirúrgica	20 (74,1 %)	20 (38,5 %)	7 (7,5 %)	<0,05****
Exitus	7 (25,9 %)	4 (7,7 %)	5 (5,4 %)	<0,05***

[†] No se incluyen en esta tabla los datos de cuatro niños afectados exclusivamente por una infección vírica; dos de estos niños estaban colonizados por una BMR. Señala aquellos casos en los que no se dispone de información respecto a ese parámetro en el total de los niños. Datos expresados en mediana de días y rango. Otras complicaciones intraútero: Hipoxia o sufrimiento fetal agudo, S. feto-fetal, hidrops fetal. Malformaciones: atresia esófago, situs inverso y linfangiomaquistico cerebral. Cardiopatía congénita: comunicación interauricular o interventricular, transposición de grandes vasos, tetralogía de Fallot y estenosis pulmonar. Patología neurológica: Encefalopatía hipóxico-isquémica, hemorragia cerebral y aneurisma de la V. de Galeno. Otras patologías cardiacas: Insuficiencia cardiaca, edema agudo de pulmón o shock cardiogénico. Alt. hematológicas no relacionadas con la prematuridad: Ictericia isoimmune, trombocitopenia u otra coagulopatía. Otras: Quilotórax, neumotórax, hemotórax o derrame pleural, heumo / hemomediastino.

* Existen diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de pacientes con infección y los pacientes no infectados.

** Existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de niños infectados por bacterias no MR y los niños no infectados.

*** Existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de niños infectados por BMR y los niños no infectados.

**** Existen diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de pacientes con infección y los pacientes no infectados, así como entre los dos grupos de pacientes infectados.

Tabla 33: Posibles factores condicionantes de infección y otros datos relacionados con esta en niños con un peso al nacimiento > 1500 gr.

Característica (n=100 niños)	Niños infectados BMR (n=12)	Niños infectados otras bacterias (n=19)	Niños no infectados (n=69)	P
Sexo: masculino	6 (50 %)	11 (57,9 %)	33 (47,8,7 %)	0,74
Edad gestacional: 24-29 sem.	0	0	0	NA
30-36 sem.	3 (25 %)	10 (52,6%)	35 (50,7 %)	0,23
>36 sem.	9 (75 %)	9 (47,4 %)	33 (47,8 %)	0,21
Peso: ≤ 500 g.	0	0	0	NA
501-1000 g.	0	0	0	NA
1001-1500 g.	0	0	0	NA
1501-2000 g.	2 (16,7 %)	5 (26,3 %)	13 (18,8 %)	0,73
2001-2500 g.	1 (8,3 %)	3 (15,8 %)	20 (29 %)	0,19
> 2500 g.	9 (75 %)	11 (57,9 %)	36 (52,2 %)	0,33
Tipo de parto: vaginal	5 (41,7 %)	12 (63,2 %)	36 (52,2 %)	0,49
Apgar al nacimiento <5†	1 (9,1 %)	0	15 (21,7 %)	0,05**
Gemelos o trillizos	0	1 (5,3 %)	9 (7,7 %)	0,28
Colonización rectal	7 (58,3 %)	8 (42,1 %)	17 (24,6 %)	0,04
Motivo de ingreso				
Prematuridad	2 (16,7 %)	8 (42,1 %)	31 (44,9 %)	0,18
Bajo peso	1 (8,3 %)	1 (5,3 %)	7 (10,1 %)	0,80
S. Aspiración meconial	1 (8,3 %)	0	11 (15,9%)	0,15**
Otras complicaciones intraútero	2 (16,7 %)	5 (26,3 %)	18 (26,1 %)	0,78
Riesgo de infecc. de transmisión vertical	1 (8,3 %)	5 (26,3 %)	15 (21,7 %)	0,47
Enf. Membrana hialina o SDR idiopático	2 (16,7 %)	9 (47,4 %)	23 (33,3 %)	0,21
Malformaciones o S. malformativos	7 (58,3 %)	6 (31,6 %)	7 (10,1 %)	<0,05***
Cardiopatía congénita	5 (41,7 %)	7 (36,8 %)	9 (13,0%)	<0,05
Paro cardiorrespiratorio	0	0	1 (1,4 %)	0,79
Otras patologías de base:				
Neurológicas	1 (8,3 %)	6 (31,6 %)	5 (7,2 %)	<0,05**
Cardiacas	7 (58,3 %)	7 (36,8 %)	5 (7,2 %)	<0,05*
Enterocolitis necrotizante	2 (16,7 %)	0	0	<0,05**
Insuf. renal aguda	3 (25 %)	4 (21,0 %)	1 (1,4 %)	<0,05*
Alt. hematológicas no rel. con prematuridad	3 (25 %)	3 (15,8 %)	8 (11,6 %)	0,45
Otras	2 (16,7 %)	6 (31,6 %)	2 (2,9 %)	<0,05**
Catéter umbilical	8 (66,7 %)	12 (63,2 %)	43 (46,2 %)	0,96
Duración	4 d (1-6 d)	4 d (1-11 d)	2 d (1-7 d)	<0,05*
Otro tipo de cat. centrales	11 (91,7 %)	19 (100 %)	61 (65,6 %)	0,29
Duración	28 d (3-69 d)	18 d (1-101 d)	7d (1-26 d)	<0,05*
Nutrición parenteral	7 (58,3 %)	13 (68,4 %)	34 (36,6 %)	0,32
Duración	21 d (6-28 d)	16 d (3-40 d)	8d (2-93 d)	<0,05*
Ventilación mecánica	11 (91,7 %)	16 (84,2 %)	36 (38,7 %)	<0,05*
Días	10 d (1-48 d)	5 d (1-38 d)	3 d (1-42 d)	<0,05*
Sonda urinaria†	9 (75 %)	10 (52,6 %)*	15 (16,1 %)	<0,05*
Intervención quirúrgica	11 (91,7 %)	9 (47,4 %)	7 (7,5 %)	<0,05****
Exitus	3 (25 %)	2 (10,5 %)	5 (5,4 %)	0,17

†Señala aquellos casos en los que no se dispone de información respecto a ese parámetro en el total de los niños. Datos expresados en mediana de días y rango. Otras complicaciones intraútero: Hipoxia o sufrimiento fetal agudo, S. feto-fetal, hidrops fetal. Malformaciones: atresia esófago, situs inverso y linfangioma quístico cerebral. Cardiopatía congénita: comunicación interauricular o interventricular, transposición de grandes vasos, tetralogía de Fallot y estenosis pulmonar. Patología neurológica: Encefalopatía hipóxico-isquémica, hemorragia cerebral y aneurisma de la V. de Galeno. Otras patologías cardiacas: Insuficiencia cardíaca, edema agudo de pulmón o shock cardiogénico. Alt. hematológicas no relacionadas con la prematuridad: Ictericia isoimmune, trombocitopenia u otra coagulopatía. Otras: Quilotórax, neumotórax, hemotórax o derrame pleural, heumo / hemomediastino.

* Existen diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de pacientes con infección y los pacientes no infectados.

** Existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de niños infectados por bacterias no MR y los niños no infectados.

*** Existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de niños infectados por BMR y los niños no infectados.

**** Existen diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de pacientes con infección y los pacientes no infectados, así como entre los dos grupos de pacientes infectados.

CONCLUSIONES

1. En los 176 niños estudiados mediante cultivos de muestras rectales programados (reglados), durante los 5 meses de duración de este proyecto, se detecta colonización por una bacteria multirresistentes (BMR) en 80 (45,4 %). Si a estos cultivos reglados se suman los de vigilancia no reglada, el número de pacientes colonizados durante ese periodo asciende a 90 (51 %).
2. Ochenta y tres de estos 90 niños están colonizados por cuatro de las doce especies de bacterias multirresistentes detectadas, que son *Klebsiella pneumoniae*, seguida de *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes* y *Citrobacter freundii*.
3. Los niños colonizados mostraron una mediana del tiempo de estancia en la UCI mayor que los no colonizados (42 vs. 6 días; $p < 0.01$).
4. El periodo libre de colonización desde que un niño se incluye en el estudio hasta que se detecta la colonización osciló entre 0 y 64 días siendo la mediana de 7 días.
5. La duración de la colonización, según el protocolo de seguimiento, osciló entre 1 y 66 días, con una mediana de 7 días. Esto implica que, teniendo en cuenta que el seguimiento medio fue de 18 días, los niños están colonizados alrededor de la mitad del tiempo en que están sometidos a vigilancia.
6. Si se evalúa el número de microorganismos que colonizan a los 80 niños con cultivos reglados se observa que en 58 (32.5 %) la colonización se debe a un solo microorganismo en tanto que en los 22 niños restantes (27.5 %), que son más de la cuarta parte, la colonización estaba producida por 2, 3 o 4 microorganismos. Este hecho se ha de tener en cuenta cuando se plantea un estudio de vigilancia activa.
7. En nueve de los 80 niños en que se detecta colonización mediante las muestras propias del estudio, existe discontinuidad en el resultado de los cultivos programados, apareciendo cultivos intermedios que hemos valorado como falsamente negativos. Además existen niños en los que persiste el mismo clon

- durante largos periodos de colonización. Esto sugiere que una vez detectada la colonización deberían adoptarse las medidas que se hayan programado pero no resulta eficiente proseguir los cultivos de vigilancia reglada.
8. Al evaluar globalmente los datos del estudio observamos una enorme dinámica tanto de los propios niños (por la duración variable de su estancia, los cambios de box, la salida a otras unidades y en ocasiones el reingreso); como en la aparición y difusión de las diversas especies multirresistentes detectadas. Esto crea un marco de incerteza para la planificación de protocolos de control.
 9. Esta complejidad es aún superior cuando se observa que las 11 especies multirresistentes detectadas conforman en conjunto 51 clones y que sin la previa determinación de los clones existentes no puede diferenciarse entre las cepas que son responsables de un brote y las que causan casos esporádicos. En nuestro estudio se observó que 13 de los clones daban lugar a casos epidémicos en tanto que los 38 restantes causaban casos esporádicos.
 10. De los trece brotes detectados 6 afectaron a entre 4 y 46 niños y los 7 restantes a entre 1 y 3 niños aunque todos los niños colonizados y los no colonizados estaban bajo el mismo protocolo de profilaxis para evitar la colonización.
 11. Los factores asociados a la colonización han sido la prematuridad extrema (nacimiento antes de la semana 30 de gestación) el bajo peso, tener un hermano colonizado, recibir lactancia materna, estar sometido a nutrición parenteral o llevar una sonda nasogástrica, la toma de antibióticos por parte del niño o que la madre haya recibido una combinación de una penicilina y un aminoglicósido en el mes previo al parto o intraparto.
 12. Consideradas globalmente todas las infecciones sistémicas estas son más frecuentes que las superficiales (171 vs. 91). Las 171 infecciones sistémicas estaban causadas en 103 casos por bacterias, 11 casos por hongos y 20 por virus no llegándose a documentar microbiológicamente la etiología en 36 episodios. De las 91 infecciones superficiales, 34 pueden atribuirse a bacterias y 27 a hongos; no se detectan infecciones víricas y en 30 no se consigue precisar la etiología.
 13. Las infecciones bacterianas sistémicas están causadas por bacterias multirresistentes en menor proporción que las superficiales (21 % vs. 35 %) y

- dentro de las sistémicas son más frecuentes las infecciones respiratorias, urinarias y abdominales que la bacteriemia. Este hecho apoya la hipótesis que atribuye a las bacterias resistentes una menor capacidad virulenta y viceversa.
14. Existe una mejor correlación entre las infecciones bacterianas globales y el estado general del paciente evaluado según la propuesta de score, que con la colonización previa.
 15. Los factores favorecedores de infección por BMR no se diferencian de los factores de infección por otro tipo de bacterias.
 16. Las bacterias multirresistentes que han causado mayor proporción de infección respecto a la colonización han sido *K. pneumoniae* (19 %), *E. cloacae* (16 %) y *C. freundii* (15 %).
 17. Diez niños no colonizados por bacterias multirresistentes presentaron igualmente infecciones por este tipo de bacterias. La mitad estaban colonizados previamente por otra BMR de diferente especie; lo que indica la compleja dinámica entre colonización e infección.
 18. A pesar de la correlación señalada entre los factores generales favorecedores de infección y las infecciones bacterianas, no existe una clara correlación entre la presencia de infección por BMR y la muerte ya que cuando eliminamos del análisis a los niños de mayor riesgo vital (< 1500 g.), desaparecen las diferencias entre los distintos grupos.
 19. La complejidad de las colonizaciones por bacterias multirresistentes tanto debido a las propias bacterias, sus variedades clonales, su dinámica de persistencia, difusión, desaparición y reaparición; así como la complejidad que presentan los niños en sus procesos patológicos, su movilidad y otros factores indeterminados hacen difícil establecer la correlación entre las bacterias los niños y la colonización; así como la dificultad para establecer una correlación de estos factores con el *exitus*, nos ha hecho llegar a la conclusión de que no se puede establecer un algoritmo estable de actuación para la profilaxis de la colonización, sino que las medidas han de ser tomadas de modo individualizado en cada unidad en función de factores médicos, de disponibilidad de personal pero también de disponibilidad de espacio y económicos entre otros.

REFERENCIAS

1. Saiman, L. Preventing infections in the neonatal intensive care unit. In: Wenzel, RP, editor. *Prevention and control of nosocomial infections*. 14 ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p. 342–63.
2. Haque KN. Defining common infections in children and neonates. *J Hosp Infect*. 2007 Jun;65 Suppl 2:110–4.
3. Abizanda SS. Epidemiología y fisiopatología de la infección perinatal de transmisión vertical. In: Ponencia mixta: Sepsis de transmisión vertical XVIII Congreso Español de Medicina Perinatal [Internet]. 2001 [cited 2015 May 28]. Available from: <http://se-neonatal.es/Portals/0/01-07ponencias.pdf>
4. Fernández Colomer, B., López Sastre, J., Coto Cotallo, GD., Ramos Aparicio, A., Ibáñez Fernández, A. Sepsis del recién nacido [Internet]. Asociación Española de Pediatría; 2008 [cited 2014 Dec 9]. Available from: http://aeped.es/sites/default/files/documentos/21_0.pdf
5. Simonsen KA, Anderson-Berry AL, Delair SF, Davies HD. Early-Onset Neonatal Sepsis. *Clin Microbiol Rev*. 2014 Jan 1;27(1):21–47.
6. Benjamin DK, Stoll BJ. Infection in Late Preterm Infants. *Clin Perinatol*. 2006 Dec;33(4):871–82.
7. Long SS, Pickering LK, Prober CG. *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone/Elsevier; 2008.
8. Camacho-Gonzalez A, Spearman PW, Stoll BJ. Neonatal Infectious Diseases. *Pediatr Clin North Am*. 2013 Apr;60(2):367–89.
9. Molina-Cabrillana J, Santana-Reyes C, Hernández J, López I, Dorta E. [Incidence of nosocomial infections at a neonatal intensive care unit: a six-year surveillance study]. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 2006 May;24(5):307–12.
10. Urrea M, Iriando M, Thio M, Krauel X, Serra M, LaTorre C, et al. A prospective incidence study of nosocomial infections in a neonatal care unit. *Am J Infect Control*. 2003 Dec;31(8):505–7.
11. Fernandez - 2011 - Infecciones nosocomiales en una Unidad de Cuidados.pdf.
12. Didier C, Streicher M-P, Chognot D, Campagni R, Schnebelen A, Messer J, et al. Late-onset neonatal infections: incidences and pathogens in the era of antenatal antibiotics. *Eur J Pediatr*. 2012 Apr;171(4):681–7.
13. Geffers C, Baerwolff S, Schwab F, Gastmeier P. Incidence of healthcare-associated infections in high-risk neonates: results from the German surveillance system for very-low-birthweight infants. *J Hosp Infect*. 2008 Mar;68(3):214–21.
14. Versalovic J, American Society for Microbiology, editors. *Manual of clinical microbiology*. 10th ed. Washington, DC: ASM Press; 2011. 2 p.
15. JE B, R D, MJ B, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8^a ed. 2015.

16. Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, Remington JS, Klein JO, editors. Remington and Klein's infectious diseases of the fetus and newborn infant: [get full access and more at ExpertConsult.com]. Eight edition. Philadelphia, PA: Elsevier, Saunders; 2016. 1253 p.
17. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2002 Aug;110(2 Pt 1):285–91.
18. Nataro JP, Corcoran L, Zirin S, Swink S, Taichman N, Goin J, et al. Prospective analysis of coagulase-negative staphylococcal infection in hospitalized infants. *J Pediatr*. 1994 Nov;125(5 Pt 1):798–804.
19. Sarkar S, Bhagat I, DeCristofaro JD, Wiswell TE, Spitzer AR. A study of the role of multiple site blood cultures in the evaluation of neonatal sepsis. *J Perinatol*. 2006;26(1):18–22.
20. Struthers S, Underhill H, Albersheim S, Greenberg D, Dobson S. A Comparison of Two Versus One Blood Culture in the Diagnosis and Treatment of Coagulase-Negative Staphylococcus in the Neonatal Intensive Care Unit. *J Perinatol*. 2002 Oct 7;22(7):547–9.
21. Karlowicz MG, Buescher ES, Surka AE. Fulminant late-onset sepsis in a neonatal intensive care unit, 1988-1997, and the impact of avoiding empiric vancomycin therapy. *Pediatrics*. 2000 Dec;106(6):1387–90.
22. Makhoul IR, Sujov P, Smolkin T, Lusky A, Reichman B, others. Pathogen-specific early mortality in very low birth weight infants with late-onset sepsis: a national survey. *Clin Infect Dis*. 2005;40(2):218–24.
23. Verboon-Macielek MA, Krediet TG, Gerards LJ, Fler A, van Loon TM. Clinical and Epidemiologic Characteristics of Viral Infections in a Neonatal Intensive Care Unit During a 12-Year Period: *Pediatr Infect Dis J*. 2005 Oct;24(10):901–4.
24. Gary Karlowicz, M., Stephen Buescher E. Nosocomial infections in the neonate. In: Long Sarah S, Pickering Larry K., Prober Charles G., editors. *Principles y Practice of Pediatric Infectious Diseases*. 3rd ed. Philadelphia, Pa: Churchill Livingstone/Elsevier; 2008. p. 545.
25. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003 Apr;31(4):1250–6.
26. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2005 Jan;6(1):2–8.
27. Reyna-Figueroa, J., Yuri-Toala, E., Ortiz-Ibarra, F. J., Rodríguez-Ramírez, E., Limón-Rojas, A. E. Disparidad en los criterios para incluir pacientes con sepsis neonatal en estudios médicos científicos. ¿Nadamos en un mar sin límites? *Pediatr Barc*. 2006;65((6)):536–40.
28. Sastre JL, Solís DP. Definiciones de sepsis neonatal: un largo camino por recorrer. In: *Anales de Pediatría*. Elsevier Doyma; 2006. p. 525–8.
29. Kaukonen K-M, Bailey M, Pilcher D, Cooper DJ, Bellomo R. Systemic Inflammatory Response Syndrome Criteria in Defining Severe Sepsis. *N Engl J Med*. 2015 Apr 23;372(17):1629–38.
30. Herruzo Cabrera R, Díez Sebastián J, Baylin Larios A, Nadal D, Peña P, García Caballero J. [Septicemia associated with central venous catheterization in a children's hospital. A multivariate study].

Med Clínica. 1998 Nov 28;111(18):687–91.

31. Santesteban Otazu E, Rodríguez Serna A, Goñi Orayen C, Pérez Legorburu A, Echeverría Lecuona MJ, Martínez Ayucar MM, et al. Mortalidad y morbilidad de neonatos de muy bajo peso asistidos en el País Vasco y Navarra (2001-2006): estudio de base poblacional. *An Pediatría*. 2012 Nov;77(5):317–22.
32. Sanchez, P. Sepsis neonatal [Internet]. UNIDAD DE PATOLOGÍA INFECCIOSA SERVICIO DE NEONATOLOGÍA. HUVH. BARCELONA. SEPTIEMBRE 2005 REVISADO EN JUNIO 2008; 2008. Available from: http://www.upiip.com/files/20090413064652_2274_3e0d85b4-4209-4da9-8aa7-424d3ad826a1.pdf
33. García-Muñoz Rodrigo F, Díez Recinos AL, García-Alix Pérez A, Figueras Aloy J, Vento Torres M. Changes in Perinatal Care and Outcomes in Newborns at the Limit of Viability in Spain: The EPI-SEN Study. *Neonatology*. 2015;107(2):120–9.
34. EuroNeoNet. “General Report for Very-Low-Birth-Weight/Very-Low-Gestational-Age Infants” 2006-11 [Internet]. Available from: www.euroneostat.org
35. Prieto CL, Colomer BF, Sastre JBL. Prognostic factors of mortality in very low-birth-weight infants with neonatal sepsis of nosocomial origin. *Am J Perinatol*. 2013 May;30(5):353–8.
36. Planes AM, Calleja R, Bernet A, Campins-Martí M, Almirante B, Pumarola T, et al. Evaluation of the usefulness of a quantitative blood culture in the diagnosis of catheter-related bloodstream infection: Comparative analysis of two periods (2002 and 2012). *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica* [Internet]. 2016 Jan [cited 2016 Jan 29]; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X15004437>
37. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med*. 1977 Jun 9;296(23):1305–9.
38. Kim SD, McDonald LC, Jarvis WR, McAllister SK, Jerris R, Carson LA, et al. Determining the significance of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures at a community hospital: a role for species and strain identification. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000 Mar;21(3):213–7.
39. Noel GJ, Edelson PJ. Staphylococcus epidermidis bacteremia in neonates: further observations and the occurrence of focal infection. *Pediatrics*. 1984 Nov;74(5):832–7.
40. Santiago EB, de Bobadilla ELF, Reig AP, Cobacho AR. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. [cited 2015 Jul 28]; Available from: <http://coli.usal.es/web/abydl/biblioteca/bibelectro.alu/documentos/protocolos2/hemocul/cap3.pdf>
41. Snyder JW. Blood Cultures: the Importance of Meeting Pre-Analytical Requirements in Reducing Contamination, Optimizing Sensitivity of Detection, and Clinical Relevance. *Clin Microbiol Newsl*. 2015;37(7):53–7.
42. Kumar Y, Qunibi M, Neal TJ, Yoxall CW. Time to positivity of neonatal blood cultures. *Arch Dis Child-Fetal Neonatal Ed*. 2001;85(3):F182–6.
43. Murray PR, Masur H. Current approaches to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections in the intensive care unit: *Crit Care Med*. 2012 Dec;40(12):3277–82.
44. Feigin RD, McCracken GH, Klein JO. Diagnosis and management of meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 1992 Sep;11(9):785–814.
45. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. To tap or not to tap:

high likelihood of meningitis without sepsis among very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2004 May;113(5):1181–6.

46. Flidel-Rimon O, Leibovitz E, Eventov Friedman S, Juster-Reicher A, Shinwell E. Is lumbar puncture (LP) required in every workup for suspected late-onset sepsis in neonates?: LP for every neonatal sepsis work-up? *Acta Paediatr*. 2011 Feb;100(2):303–4.

47. Malbon K. Should a neonate with possible late onset infection always have a lumbar puncture? *Arch Dis Child*. 2005 May 10;91(1):75–6.

48. Fernández Colomer, B., López Sastre, J., Coto Cotallo, GD., Ramos Aparicio, A., Ibáñez Fernández, A. Meningitis neonatal [Internet]. Asociación Española de Pediatría; 2008 [cited 2014 Dec 9]. Available from: http://aeped.es/sites/default/files/documentos/22_0.pdf

49. Grupo de Hospitales Castrillo. [Neonatal meningitis. Epidemiological study of the Grupo de Hospitales Castrillo]. *An Esp Pediatría*. 2002 Jun;56(6):556–63.

50. Furyk JS, Swann O, Molyneux E. Systematic review: neonatal meningitis in the developing world: Neonatal meningitis in the developing world. *Trop Med Int Health*. 2011 Jun;16(6):672–9.

51. Katayama Y, Minami H, Enomoto M, Takano T, Hayashi S, Lee YK. Usefulness of Gram staining of tracheal aspirates in initial therapy for ventilator-associated pneumonia in extremely preterm neonates. *J Perinatol*. 2009;30(4):270–4.

52. Cernada M, Aguar M, Brugada M, Gutiérrez A, López JL, Castell M, et al. Ventilator-associated pneumonia in newborn infants diagnosed with an invasive bronchoalveolar lavage technique: a prospective observational study. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2013 Jan;14(1):55–61.

53. Apisarnthanarak A, Holzmann-Pazgal G, Hamvas A, Olsen MA, Fraser VJ. Ventilator-associated pneumonia in extremely preterm neonates in a neonatal intensive care unit: characteristics, risk factors, and outcomes. *Pediatrics*. 2003 Dec;112(6 Pt 1):1283–9.

54. Baltimore RS. The difficulty of diagnosing ventilator-associated pneumonia. *Pediatrics*. 2003 Dec;112(6 Pt 1):1420–1.

55. Cernada M, Brugada M, Golombek S, Vento M. Ventilator-Associated Pneumonia in Neonatal Patients: An Update. *Neonatology*. 2014;105(2):98–107.

56. Gibbs K, Holzman IR. Endotracheal Tube: Friend or Foe? Bacteria, the Endotracheal Tube, and the Impact of Colonization and Infection. *Semin Perinatol*. 2012 Dec;36(6):454–61.

57. Tan B, Zhang F, Zhang X, Huang Y-L, Gao Y-S, Liu X, et al. Risk factors for ventilator-associated pneumonia in the neonatal intensive care unit: a meta-analysis of observational studies. *Eur J Pediatr*. 2014 Apr;173(4):427–34.

58. Kawanishi et al. - 2014 - Risk factors for ventilator-associated pneumonia i.pdf.

59. Balcells Ramírez J, López-Herce Cid J, Modesto Alapont V. Prevalencia de la ventilación mecánica en las unidades de cuidados intensivos pediátricos en España. In: *Anales de Pediatría* [Internet]. Elsevier; 2004 [cited 2015 Jan 12]. p. 533–41. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1695403304784404>

60. Lu W, Yu J, Ai Q, Liu D, Song C, Li L. Increased Constituent Ratios of *Klebsiella* sp., *Acinetobacter*

sp., and *Streptococcus* sp. and a Decrease in Microflora Diversity May Be Indicators of Ventilator-Associated Pneumonia: A Prospective Study in the Respiratory Tracts of Neonates. *PloS One*. 2014;9(2):e87504.

61. Murila F, Francis JV, Bland A, Kumbla S, Doherty R, Sehgal A. Interpreting positive cultures of endotracheal aspirates: Factors associated with treatment decisions in ventilated neonates: Positive cultures on tracheal aspirates. *J Paediatr Child Health*. 2011 Oct;47(10):728–33.

62. Patrick SW, Kawai AT, Kleinman K, Jin R, Vaz L, Gay C, et al. Health Care-Associated Infections Among Critically Ill Children in the US, 2007-2012. *PEDIATRICS*. 2014 Oct 1;134(4):705–12.

63. Ventura Faci, M^a Purificación, López Sastre, J. Infección urinaria en el recién nacido [Internet]. Asociación Española de Pediatría; 2008 [cited 2014 Dec 9]. Available from: http://aeped.es/sites/default/files/documentos/53_0.pdf

64. Subcommittee on Urinary Tract Infection, Steering Committee on Quality Improvement and Management. Urinary Tract Infection: Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of the Initial UTI in Febrile Infants and Children 2 to 24 Months. *PEDIATRICS*. 2011 Sep 1;128(3):595–610.

65. El-Naggar W, Yiu A, Mohamed A, Shah V, Manley J, McNamara P, et al. Comparison of Pain During Two Methods of Urine Collection in Preterm Infants. *PEDIATRICS*. 2010 Jun 1;125(6):1224–9.

66. Ochoa Sangrador C, Málaga Guerrero S. Recomendaciones de la Conferencia de Consenso “Manejo diagnóstico y terapéutico de las infecciones del tracto urinario en la infancia.” In: *Anales de pediatría* [Internet]. Elsevier; 2007 [cited 2015 Jan 20]. p. 517–25. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S169540330770718X>

67. Clarke D, Gowrishankar M, Etches P, Lee BE, Robinson JL. Management and outcome of positive urine cultures in a neonatal intensive care unit. *J Infect Public Health*. 2010 Dec;3(4):152–8.

68. Robinson JL, Davies HD, Barton M, O’Brien K, Simpson K, Asztalos E, et al. Characteristics and outcome of infants with candiduria in neonatal intensive care - a Paediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) study. *BMC Infect Dis*. 2009;9(1):183.

69. Abourazzak S, Bouharrou A, Hida M. [Jaundice and urinary tract infection in neonates: simple coincidence or real consequence?]. *Arch Pédiatrie Organe Off Société Fr Pédiatrie*. 2013 Sep;20(9):974–8.

70. Tamim MM, Alesseh H, Aziz H. Analysis of the efficacy of urine culture as part of sepsis evaluation in the premature infant. *Pediatr Infect Dis J*. 2003 Sep;22(9):805–8.

71. Levy I, Comarsca J, Davidovits M, Klinger G, Sirota L, Linder N. Urinary tract infection in preterm infants: the protective role of breastfeeding. *Pediatr Nephrol Berl Ger*. 2009 Mar;24(3):527–31.

72. Downey LC, Benjamin DK, Clark RH, Watt KM, Hornik CP, Laughon MM, et al. Urinary tract infection concordance with positive blood and cerebrospinal fluid cultures in the neonatal intensive care unit. *J Perinatol*. 2013 Apr;33(4):302–6.

73. Cataldi L, Zaffanello M, Gnarra M, Fanos V. Urinary tract infection in the newborn and the infant: state of the art. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2010 Oct;23(S3):90–3.

74. López Sastre JB, Ramos Aparicio A, Coto Cotallo GD, Fernández Colomer B, Crespo Hernández M, Grupo de Hospitales Castrillo. Urinary tract infection in the newborn: clinical and radio imaging studies. *Pediatr Nephrol*. 2007 Aug 23;22(10):1735–41.

75. Bauer S, Eliakim A, Pomeranz A, Regev R, Litmanovits I, Arnon S, et al. Urinary tract infection in very low birth weight preterm infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2003 May;22(5):426–30.
76. Fernández Díaz M, Solís Sánchez G, Málaga Guerrero S, Fernández Fernández EM, Menéndez Arias C, Fernández Menéndez JM, et al. Comparación temporal y bacteriológica de la infección urinaria neonatal. In: *Anales de Pediatría* [Internet]. Elsevier; 2008 [cited 2015 Jan 20]. p. 526–32. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1695403308752354>
77. de la Hunt MN. The acute abdomen in the newborn. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2006 Jun;11(3):191–7.
78. Khan R, Rao KL, Mahajan J. Spontaneous intestinal perforation in neonates: Is surgery always indicated? *Afr J Paediatr Surg*. 2011;8(2):249.
79. Robertson NJ, Kuna J, Cox PM, Lakhoo K. Spontaneous intestinal perforation and Candida peritonitis presenting as extensive necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr*. 2003;92(2):258–61.
80. Demestre Guasch, X, Raspall Torrent, F. Enterocolitis necrosante [Internet]. *Asociación Española de Pediatría*; 2008 [cited 2014 Dec 9]. Available from: http://aeped.es/sites/default/files/documentos/42_0.pdf
81. Brook I. Microbiology and management of neonatal necrotizing enterocolitis. *Am J Perinatol*. 2008 Feb;25(2):111–8.
82. Bell MJ. Peritonitis in the newborn--current concepts. *Pediatr Clin North Am*. 1985 Oct;32(5):1181–201.
83. Walsh MC, Kliegman RM. Necrotizing enterocolitis: treatment based on staging criteria. *Pediatr Clin North Am*. 1986 Feb;33(1):179–201.
84. Brito DVD, Oliveira EJ, Matos C, Abdallah VOS, Filho PPG. An outbreak of conjunctivitis caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian newborn intensive care unit. *Braz J Infect Dis*. 2003;7:234–5.
85. Centers for Disease Control and Prevention. CDC/NHSN Surveillance Definitions for Specific Types of Infections [Internet]. 2015. Available from: www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/17pscNosInfDef_current.pdf
86. Raskind CH, Sabo BE, Callan DA, Farrel PA, Dembry L-M, Gallagher PG. Conjunctival colonization of infants hospitalized in a neonatal intensive care unit: a longitudinal analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004 Mar;25(3):216–20.
87. Haas J, Larson E, Ross B, See B, Saiman L. Epidemiology and diagnosis of hospital-acquired conjunctivitis among neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24(7):586.
88. Jeong IS, Jeong JS, Choi EO. Nosocomial infection in a newborn intensive care unit (NICU), South Korea. *BMC Infect Dis*. 2006;6(1):103.
89. Prats Pastor G. *Microbiología y parasitología médicas*. Madrid (España: Editorial Médica Panamericana; 2013.
90. Sabaté M, Prats G. [Structure and function of integrins]. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 2002 Sep;20(7):341–5.

91. Carattoli A. Plasmids and the spread of resistance. *Int J Med Microbiol*. 2013 Aug;303(6-7):298–304.
92. Brown-Jaque M, Calero-Cáceres W, Muniesa M. Transfer of antibiotic-resistance genes via phage-related mobile elements. *Plasmid*. 2015 May;79:1–7.
93. Tang SS, Apisarnthanarak A, Hsu LY. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2014 Aug [cited 2014 Nov 19]; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X14001690>
94. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance: International standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Mar;18(3):268–81.
95. Mattner F, Bange F-C, Meyer E, Seifert H, Wichelhaus TA, Chaberny IF. Preventing the spread of multidrug-resistant gram-negative pathogens: recommendations of an expert panel of the German Society For Hygiene and Microbiology. *Dtsch Arztebl Int*. 2012;109(3):39.
96. Prats Pastor G. *Microbiología clínica*. Madrid [etc.]: Editorial Médica Panamericana; 2005.
97. Rammelkamp M. Resistances of *Staphylococcus aureus* to the action of penicillin. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1942;51:386–9.
98. Stryjewski ME, Corey GR. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Evolving Pathogen. *Clin Infect Dis*. 2014 Jan 1;58(suppl 1):S10–9.
99. Hiramatsu K, Ito T, Tsubakishita S, Sasaki T, Takeuchi F, Morimoto Y, et al. Genomic Basis for Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Infect Chemother*. 2013;45(2):117.
100. Giuffrè M, Cipolla D, Bonura C, Geraci DM, Aleo A, Di Noto S, et al. Epidemic spread of ST1-MRSA-IVa in a neonatal intensive care unit, Italy. *BMC Pediatr*. 2012;12(1):64.
101. Kuint J, Barzilai A, Regev-Yochay G, Rubinstein E, Keller N, Maayan-Metzger A. Comparison of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia to other staphylococcal species in a neonatal intensive care unit. *Eur J Pediatr*. 2007 Feb 16;166(4):319–25.
102. David MD, Kearns AM, Gossain S, Ganner M, Holmes A. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: nosocomial transmission in a neonatal unit. *J Hosp Infect*. 2006 Nov;64(3):244–50.
103. Sax H, Posfay-Barbe K, Harbarth S, Francois P, Touveneau S, Pessoa-Silva CL, et al. Control of a cluster of community-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in neonatology. *J Hosp Infect*. 2006 May;63(1):93–100.
104. Armand-Lefevre L, Ruimy R, Andremont A, others. Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(5):711–4.
105. Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M, others. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(12):1965–6.
106. Camoez M, Sierra JM, Pujol M, Hornero A, Martin R, Domínguez MA. Prevalence and Molecular Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST398 Resistant to Tetracycline at a

Spanish Hospital over 12 Years. Rohde H, editor. PLoS ONE. 2013 Sep 5;8(9):e72828.

107. Couto RC, Pedrosa TM, Tupinambás U, Rezende NA. The Effect of post-discharge surveillance and control strategies on the course of a *Staphylococcus aureus* outbreak in a newborn nursery. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis*. 2000 Dec;4(6):296–300.

108. Scheithauer S, Trepels-Kottek S, Häfner H, Keller D, Ittel T, Wagner N, et al. Healthcare worker-related MRSA cluster in a German neonatology level III ICU: A true European story. *Int J Hyg Environ Health*. 2014 Mar;217(2-3):307–11.

109. K. Hiramatsua, H. Hanakia, T. Inob, K. Yabutab, T. Oguric, F. C. Tenoverd. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother*. 1997;(40):135–46.

110. Christian G. Giske, Martinez-Martinez, Rafael Cantón, Stefania Stefani, Robert Skov, Youri Glupczynski, et al. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. [Internet]. EUCAST; Version 1.0 of December2013. Available from:

http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_v1.0_20131211.pdf

111. Katayama Y, Sekine M, Hishinuma T, Aiba Y, Hiramatsu K. Complete Reconstitution of the Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* Phenotype of Strain Mu50 in Vancomycin-Susceptible *S. aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 Jun;60(6):3730–42.

112. Hal SJ van, Lodise TP, Paterson DL. The Clinical Significance of Vancomycin Minimum Inhibitory Concentration in *Staphylococcus aureus* Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2012 Mar 15;54(6):755–71.

113. Holmes NE, Turnidge JD, Munckhof WJ, Robinson JO, Korman TM, O’Sullivan MVN, et al. Genetic and Molecular Predictors of High Vancomycin MIC in *Staphylococcus aureus* Bacteremia Isolates. *J Clin Microbiol*. 2014 Sep 1;52(9):3384–93.

114. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin--United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2002 Jul 5;51(26):565–7.

115. Network on Antimicrobial Resistance in *S. aureus* (NARSA). Glycopeptide resistant staphylococci. [Internet]. Available from: <http://www.narsa.net/control/member/search?repositoryId=99>.

116. Hufnagel M, Liese C, Loescher C, Kunze M, Proempeler H, Berner R, et al. Enterococcal colonization of infants in a neonatal intensive care unit: associated predictors, risk factors and seasonal patterns. *BMC Infect Dis*. 2007;7(1):107.

117. Miedema CJ, Kerkhof M, Arends JP, Bergman KA, Kimpen JLL. Risk factors for colonization with enterococci in a neonatal intensive care unit. *Clin Microbiol Infect*. 2000;6(1):53–4.

118. Zhang X, Paganelli FL, Bierschenk D, Kuipers A, Bonten MJM, Willems RJL, et al. Genome-Wide Identification of Ampicillin Resistance Determinants in *Enterococcus faecium*. Hughes D, editor. *PLoS Genet*. 2012 Jun 28;8(6):e1002804.

119. Cremniter J, Mainardi J-L, Josseaume N, Quincampoix J-C, Dubost L, Hugonnet J-E, et al. Novel Mechanism of Resistance to Glycopeptide Antibiotics in *Enterococcus faecium*. *J Biol Chem*. 2006 Sep 5;281(43):32254–62.

120. López M, Cercenado E, Tenorio C, Ruiz-Larrea F, Torres C. Diversity of Clones and Genotypes Among Vancomycin-Resistant Clinical *Enterococcus* Isolates Recovered in a Spanish Hospital. *Microb Drug Resist*. 2012 Oct;18(5):484–91.
121. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet*. 1988 Jan 2;1(8575-6):57–8.
122. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med*. 1988 Jul 21;319(3):157–61.
123. Frieden TR, Munsiff SS, Low DE, Willey BM, Williams G, Faur Y, et al. Emergence of vancomycin-resistant enterococci in New York City. *Lancet*. 1993 Jul 10;342(8863):76–9.
124. Iosifidis E, Evdoridou I, Agakidou E, Chochliourou E, Protonotariou E, Karakoula K, et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus* outbreak in a neonatal intensive care unit: Epidemiology, molecular analysis and risk factors. *Am J Infect Control*. 2013 Oct;41(10):857–61.
125. Pitout JDD. Multiresistant Enterobacteriaceae: new threat of an old problem. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2008 Oct;6(5):657–69.
126. Endimiani A, Paterson DL. Optimizing therapy for infections caused by enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases. *Semin Respir Crit Care Med*. 2007 Dec;28(6):646–55.
127. Perez F, Endimiani A, Hujer KM, Bonomo RA. The continuing challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol*. 2007 Oct;7(5):459–69.
128. Martínez-Martínez L. Extended-spectrum β -lactamases and the permeability barrier. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Jan 1;14:82–9.
129. Lavilla S, Gonzalez-Lopez JJ, Miro E, Dominguez A, Llagostera M, Bartolome RM, et al. Dissemination of extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria: the food-borne outbreak lesson. *J Antimicrob Chemother*. 2008 Mar 13;61(6):1244–51.
130. Carattoli A. Animal reservoirs for extended spectrum β -lactamase producers. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(s1):117–23.
131. Woerther P-L, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. Trends in Human Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -Lactamases in the Community: Toward the Globalization of CTX-M. *Clin Microbiol Rev*. 2013 Oct 3;26(4):744–58.
132. Coque TM, Baquero F, Canton R. In cre as I ngpr eval enceof esBL-p ro duc I ng ente ro Bacte r lac eae l n eu ro pe. 2008 [cited 2013 Dec 24]; Available from: <http://eiss.org/images/dynamic/EE/V13N47/art19044.pdf>
133. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*. 2008;8(3):159–66.
134. Rossolini GM, D'andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(s1):33–41.
135. Bin C, Hui W, Renyuan Z, Yongzhong N, Xiuli X, Yingchun X, et al. Outcome of cephalosporin treatment of bacteremia due to CTX-M-type extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2006 Dec;56(4):351–7.

136. Sanders CC. In vitro activity of fourth generation cephalosporins against enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases. *J Chemother Florence Italy*. 1996 Feb;8 Suppl 2:57–62.
137. Ramphal R, > PGA. Extended-Spectrum -Lactamases and Clinical Outcomes: Current Data. *Clin Infect Dis*. 2006 Apr 15;42(Supplement 4):S164–72.
138. Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(s1):42–52.
139. Cornaglia G, Garau J, Livermore DM. Living with ESBLs. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(s1):1–2.
140. Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Retamar P, Picon E, Pascual A, the Extended-Spectrum Beta-Lactamases-Red Espanola de Investigacion en Patologia Infecciosa/Grupo de Estudio de Infeccion Hospitalaria Group. -Lactam/ -Lactam Inhibitor Combinations for the Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum -Lactamase-Producing *Escherichia coli*: A Post Hoc Analysis of Prospective Cohorts. *Clin Infect Dis*. 2012 Jan 15;54(2):167–74.
141. Rodríguez-Baño J, Pascual A. Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2008 Oct;6(5):671–83.
142. Wojkowska-Mach JM, Chmielarczyk AM, Borszewska-Kornacka M, Domanska JM, Gadzinowski J, Gulczynska E, et al. Enterobacteriaceae Infections of Very Low Birth Weight Infants in Polish Neonatal Intensive Care Units: Resistance and Cross-transmission. *ET J*. 2013 Jun;32(6):594–8.
143. Denton M. Enterobacteriaceae. *Int J Antimicrob Agents*. 2007 May;29 Suppl 3:S9–22.
144. Zaoutis TE, Goyal M, Chu JH, Coffin SE, Bell LM, Nachamkin I, et al. Risk Factors for and Outcomes of Bloodstream Infection Caused by Extended-Spectrum ss-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Species in Children. *PEDIATRICS*. 2005 Apr 1;115(4):942–9.
145. Vijayakanthi N, Bahl D, Kaur N, Maria A, Dubey NK. Frequency and Characteristics of Infections Caused by Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Organisms in Neonates: A Prospective Cohort Study. *BioMed Res Int*. 2013;2013:1–8.
146. Rettedal S, Löhr IH, Natås O, Giske CG, Sundsfjord A, Øymar K. First outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Norwegian neonatal intensive care unit; associated with contaminated breast milk and resolved by strict cohorting. *APMIS*. 2012 Aug;120(8):612–21.
147. Harris PNA, Ferguson JK. Antibiotic therapy for inducible AmpC β -lactamase-producing Gram-negative bacilli: what are the alternatives to carbapenems, quinolones and aminoglycosides? *Int J Antimicrob Agents*. 2012 Oct;40(4):297–305.
148. Choi S-H, Lee JE, Park SJ, Choi S-H, Lee S-O, Jeong J-Y, et al. Emergence of Antibiotic Resistance during Therapy for Infections Caused by Enterobacteriaceae Producing AmpC -Lactamase: Implications for Antibiotic Use. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Mar 1;52(3):995–1000.
149. Jacoby GA. AmpC -Lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2009 Jan 8;22(1):161–82.
150. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-Determined AmpC-Type -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002 Jan 1;46(1):1–11.
151. Bauernfeind A, Chong Y, Schweighart S. Extended broad spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* including resistance to cephamycins. *Infection*. 1989 Oct;17(5):316–21.

152. Papanicolaou GA, Medeiros AA, Jacoby GA. Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and alpha-methoxy beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990 Nov 1;34(11):2200–9.
153. Nakano R, Okamoto R, Nakano Y, Kaneko K, Okitsu N, Hosaka Y, et al. CFE-1, a Novel Plasmid-Encoded AmpC-Lactamase with an ampR Gene Originating from *Citrobacter freundii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Apr 1;48(4):1151–8.
154. Navarro F, Perez-Trallero E, Marimon JM, Aliaga R, Gomariz M, Mirelis B. CMY-2-producing *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* strains isolated in Spain (October 1999-December 2000). *J Antimicrob Chemother*. 2001 Sep;48(3):383–9.
155. Rivera A, Larrosa N, Mirelis B, Navarro F. Importancia de los controles de calidad para la detección de la resistencia a antibióticos β -lactámicos en enterobacterias. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 2014 Feb;32:30–6.
156. Miró E, Agüero J, Larrosa MN, Fernández A, Conejo MC, Bou G, et al. Prevalence and molecular epidemiology of acquired AmpC β -lactamases and carbapenemases in Enterobacteriaceae isolates from 35 hospitals in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013 Feb;32(2):253–9.
157. Philippon A, Arlet G. [Enterobacteriaceae and beta-lactams: wild susceptibility patterns]. *Pathol Biol (Paris)*. 2012;60(2):112–26.
158. Mammeri H, Nordmann P, Berkani A, Eb F. Contribution of extended-spectrum AmpC (ESAC) β -lactamases to carbapenem resistance in *Escherichia coli*: ESAC β -lactamases reduced susceptibility to carbapenems. *FEMS Microbiol Lett*. 2008 Apr 4;282(2):238–40.
159. Husičková V, Chromá M, Kolář M, Hricová K, Štosová T, Kantor L, et al. Analysis of ESBL- and AmpC-Positive Enterobacteriaceae at the Department of Neonatology, University Hospital Olomouc. *Curr Microbiol*. 2011 Jun;62(6):1664–70.
160. Pestourie N, Garnier F, Barraud O, Bedu A, Ploy M-C, Mounier M. Outbreak of AmpC β -lactamase-hyper-producing *Enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care unit in a French teaching hospital. *Am J Infect Control*. 2014 Apr;42(4):456–8.
161. Fakioglu E, Queenan AM, Bush K, Jenkins SG, Herold BC. Amp C β -lactamase-producing *Escherichia coli* in neonatal meningitis: diagnostic and therapeutic challenge. *J Perinatol*. 2006 Aug;26(8):515–7.
162. Rastogi V, Nirwan PS, Jain S, Kapil A. Nosocomial outbreak of septicaemia in neonatal intensive care unit due to extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* showing multiple mechanisms of drug resistance. *Indian J Med Microbiol*. 2010 Dec;28(4):380–4.
163. Arena F, Giani T, Becucci E, Conte V, Zanelli G, D'Andrea MM, et al. Large Oligoclonal Outbreak Due to *Klebsiella pneumoniae* ST14 and ST26 Producing the FOX-7 AmpC -Lactamase in a Neonatal Intensive Care Unit. *J Clin Microbiol*. 2013 Dec 1;51(12):4067–72.
164. Yu F, Ying Q, Chen C, Li T, Ding B, Liu Y, et al. Outbreak of pulmonary infection caused by *Klebsiella pneumoniae* isolates harbouring blaIMP-4 and blaDHA-1 in a neonatal intensive care unit in China. *J Med Microbiol*. 2012 Jul;61(Pt 7):984–9.
165. Martínez-Martínez L, González-López JJ. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 2014 Dec;32 Suppl 4:4–9.

166. Keynan Y, Rubinstein E. The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community. *Int J Antimicrob Agents*. 2007 Nov;30(5):385–9.
167. Prats G, Miro E, Mirelis B, Poirel L, Bellais S, Nordmann P. First Isolation of a Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002 Mar 1;46(3):932–3.
168. Tortola MT, Lavilla S, Miro E, Gonzalez JJ, Larrosa N, Sabate M, et al. First Detection of a Carbapenem-Hydrolyzing Metalloenzyme in Two Enterobacteriaceae Isolates in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Jul 26;49(8):3492–4.
169. Tsai M-H, Chu S-M, Hsu J-F, Lien R, Huang H-R, Chiang M-C, et al. Risk Factors and Outcomes for Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteremia in the NICU. *PEDIATRICS*. 2014 Feb 1;133(2):e322–9.
170. Oliver A, Mulet X, López-Causapé C, Juan C. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resist Updat*. 2015 Jul;21-22:41–59.
171. Sung JY, Koo SH, Cho HH, Kwon KC. Nosocomial Infection by Sequence Type 357 Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates in a Neonatal Intensive Care Unit in Daejeon, Korea. *Ann Lab Med*. 2013;33(4):279.
172. Tsiatsiou O, Iosifidis E, Katragkou A, Dimou V, Sarafidis K, Karampatakis T, et al. Successful management of an outbreak due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a neonatal intensive care unit. *Eur J Pediatr*. 2015 Jan;174(1):65–74.
173. Charfi-Kessiss K, Mansour W, Ben Haj Khalifa A, Mastouri M, Nordmann P, Aouni M, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains carrying the blaOxA-23 and the blaGES-11 genes in a neonatology center in Tunisia. *Microb Pathog*. 2014 Sep;74:20–4.
174. Zarrilli R, Di Popolo A, Bagattini M, Giannouli M, Martino D, Barchitta M, et al. Clonal spread and patient risk factors for acquisition of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a neonatal intensive care unit in Italy. *J Hosp Infect*. 2012 Dec;82(4):260–5.
175. Bonnin RA, Nordmann P, Poirel L. Screening and deciphering antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* : a state of the art. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013 Jun;11(6):571–83.
176. Rodríguez-Baño J, Cisneros JM, Fernández-Cuenca F, Ribera A, Vila J, Pascual A, et al. Clinical features and epidemiology of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in Spanish hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004 Oct;25(10):819–24.
177. Oteo J, García-Estébanez C, Migueláñez S, Campos J, Martí S, Vila J, et al. Genotypic diversity of imipenem resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* in Spain. *J Infect*. 2007 Sep;55(3):260–6.
178. Villar M, Cano ME, Gato EB, Garnacho-Montero J, Miguel Cisneros J, Ruiz de Alegria C, et al. Epidemiologic and Clinical Impact of *Acinetobacter baumannii* Colonization and Infection: A Reappraisal. *Medicine (Baltimore)*. 2014 Jul;93(5):202–10.
179. Issaoui S, Maoulainine FMR, Elidrissi NS, Sorra N, Chabaa L, Aboussad A. L'infection néonatale à *Stenotrophomonas maltophilia* à propos de 2 cas. *Arch Pédiatrie*. 2012 Apr;19(4):404–7.
180. Mutlu M, Yilmaz G, Aslan Y, Bayramoğlu G. Risk factors and clinical characteristics of *Stenotrophomonas maltophilia* infections in neonates. *J Microbiol Immunol Infect*. 2011 Dec;44(6):467–72.

181. Gulcan H, Kuzucu C, Durmaz R. Nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* cross-infection: Three cases in newborns. *Am J Infect Control*. 2004 Oct;32(6):365–8.
182. Avison MB, Higgins CS, von Heldreich CJ, Bennett PM, Walsh TR. Plasmid Location and Molecular Heterogeneity of the L1 and L2 β -Lactamase Genes of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Feb 1;45(2):413–9.
183. al Naiemi N, Duim B, Bart A. A CTX-M extended-spectrum β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Med Microbiol*. 2006 Nov 1;55(11):1607–8.
184. Issaoui S, Maoulainine FMR, Elidrissi NS, Sorra N, Chabaa L, Aboussad A. L'infection néonatale à *Sténotrophomonas maltophilia* à propos de 2 cas. *Arch Pédiatrie*. 2012 Apr;19(4):404–7.
185. Mutlu M, Yilmaz G, Aslan Y, Bayramoğlu G. Risk factors and clinical characteristics of *Stenotrophomonas maltophilia* infections in neonates. *J Microbiol Immunol Infect*. 2011 Dec;44(6):467–72.
186. Abbassi M-S, Touati A, Achour W, Cherif A, Jabnoun S, Khrouf N, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* responsible for respiratory infections in neonatal intensive care unit: Antibiotic susceptibility and molecular typing. *Pathol Biol*. 2009 Jul;57(5):363–7.
187. Mutlu M, Cayir Y, Aslan Y. Urinary tract infections in neonates with jaundice in their first two weeks of life. *World J Pediatr WJP*. 2014 May;10(2):164–7.
188. del Toro MD, Rodríguez-Baño J, Martínez-Martínez L, Pascual A, Pérez-Canoa R, Perea EJ, et al. [Epidemiology, clinical features and prognosis of infections due to *Stenotrophomonas maltophilia*]. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 2006 Jan;24(1):4–9.
189. Jiménez E, Fernández L, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Nueno-Palop C, et al. Isolation of Commensal Bacteria from Umbilical Cord Blood of Healthy Neonates Born by Cesarean Section. *Curr Microbiol*. 2005 Oct;51(4):270–4.
190. Cibik R, Marcille F, Corthier G, Dore J. La flore intestinale : mise en place, description et influence du mode d'alimentation. *Arch Pédiatrie*. 2004 Jun;11(6):573–5.
191. Long SS, Swenson RM. Development of anaerobic fecal flora in healthy newborn infants. *J Pediatr*. 1977 Aug;91(2):298–301.
192. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006 Aug;118(2):511–21.
193. Grönlund MM, Salminen S, Mykkänen H, Kero P, Lehtonen OP. Development of intestinal bacterial enzymes in infants--relationship to mode of delivery and type of feeding. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand*. 1999 Jul;107(7):655–60.
194. Bezirtzoglou E. The intestinal microflora during the first weeks of life. *Anaerobe*. 1997 Jun;3(2-3):173–7.
195. Cilieborg MS, Boye M, Sangild PT. Bacterial colonization and gut development in preterm neonates. *Early Hum Dev*. 2012 Mar;88:S41–9.
196. Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr*. 2003 Dec;143(6):754–8.

197. Sakata H, Yoshioka H, Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *Eur J Pediatr.* 1985 Jul;144(2):186–90.
198. Tripathi N, Cotten CM, Smith PB. Antibiotic Use and Misuse in the Neonatal Intensive Care Unit. *Clin Perinatol.* 2012 Mar;39(1):61–8.
199. Acolet D, Ahmet Z, Houang E, Hurley R, Kaufmann ME. Enterobacter cloacae in a neonatal intensive care unit: account of an outbreak and its relationship to use of third generation cephalosporins. *J Hosp Infect.* 1994 Dec;28(4):273–86.
200. Golan Y, Doron S, Sullivan B, Snyderman DR. Transmission of vancomycin-resistant enterococcus in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J.* 2005 Jun;24(6):566–7.
201. Linkin DR, Fishman NO, Patel JB, Merrill JD, Lautenbach E. Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2004;25(9):781–3.
202. Strenger V, Gschliesser T, Grisold A, Zarfel G, Feierl G, Masoud L, et al. Orally administered colistin leads to colistin-resistant intestinal flora and fails to prevent faecal colonisation with extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteria in hospitalised newborns. *Int J Antimicrob Agents.* 2011 Jan;37(1):67–9.
203. de Man P, Verhoeven BA, Verbrugh HA, Vos MC, van den Anker JN. An antibiotic policy to prevent emergence of resistant bacilli. *Lancet.* 2000 Mar 18;355(9208):973–8.
204. Donskey CJ. The role of the intestinal tract as a reservoir and source for transmission of nosocomial pathogens. *Clin Infect Dis.* 2004;39(2):219–26.
205. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis.* 2006;6(1):130.
206. Otter JA, Yezli S, French GL. The Role Played by Contaminated Surfaces in the Transmission of Nosocomial Pathogens. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011 Jul;32(7):687–99.
207. Geraci DM, Giuffrè M, Bonura C, Matranga D, Aleo A, Saporito L, et al. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Colonization: A Three-Year Prospective Study in a Neonatal Intensive Care Unit in Italy. Planet PJ, editor. *PLoS ONE.* 2014 Feb 5;9(2):e87760.
208. Smith A, Saiman L, Zhou J, Della-Latta P, Jia H, Graham PL. Concordance of Gastrointestinal Tract Colonization and Subsequent Bloodstream Infections With Gram-negative Bacilli in Very Low Birth Weight Infants in the Neonatal Intensive Care Unit: *Pediatr Infect Dis J.* 2010 Sep;29(9):831–5.
209. Millar M, Philpott A, Wilks M, Whiley A, Warwick S, Hennessy E, et al. Colonization and Persistence of Antibiotic-Resistant Enterobacteriaceae Strains in Infants Nursed in Two Neonatal Intensive Care Units in East London, United Kingdom. *J Clin Microbiol.* 2007 Nov 26;46(2):560–7.
210. Moles L, Gómez M, Jiménez E, Fernández L, Bustos G, Chaves F, et al. Preterm infant gut colonization in the neonatal ICU and complete restoration 2 years later. *Clin Microbiol Infect.* 2015 Oct;21(10):936.e1–936.e10.
211. Parm ü., Metsvaht T, Sepp E, Ilmoja M-L, Pisarev H, Pauskar M, et al. Mucosal surveillance cultures in predicting Gram-negative late-onset sepsis in neonatal intensive care units. *J Hosp Infect.* 2011 Aug;78(4):327–32.

212. World Health Organization, editor. WHO guidelines on hand hygiene in health care: first global patient safety challenge: clean care is safer care. Geneva, Switzerland: World Health Organization, Patient Safety; 2009. 262 p.
213. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, De Angelis G, Falcone M, Frank U, et al. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Jan;20:1–55.
214. Rettedal S, Löhr IH, Natås O, Giske CG, Sundsfjord A, Øymar K. First outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Norwegian neonatal intensive care unit; associated with contaminated breast milk and resolved by strict cohorting. *APMIS*. 2012 Aug;120(8):612–21.
215. Simon A, Tenenbaum T. Surveillance of Multidrug-resistant Gram-negative Pathogens in High-risk Neonates—Does it Make a Difference?: *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Apr;32(4):407–9.
216. Chapin KC. Reagentes, stains, and media: Bacteriology. In: Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th Ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2003. p. 374.
217. National Committee for Clinical Laboratory Standards/NCCLS. Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15. Pennsylvania (USA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
218. Novicki TJ, Schapiro JM, Ulness BK, Sebaste A, Busse-Johnston L, Swanson KM, et al. Convenient Selective Differential Broth for Isolation of Vancomycin-Resistant *Enterococcus* from Fecal Material. *J Clin Microbiol*. 2004 Apr 1;42(4):1637–40.
219. Muñoz Bellido JL EIMC 2012.pdf.
220. Jordana LLuch E EIMC 2012.pdf.
221. 2012 Musap M The J of Maternal Fetal and Neonatal Medicina.pdf.
222. Monstein H-J, Quednau M, Samuelsson A, Ahrné S, Isaksson B, Jonasson J. Division of the genus *Enterococcus* into species groups using PCR-based molecular typing methods. *Microbiology*. 1998 May 1;144(5):1171–9.
223. Tang Y-W, Ellis NM, Hopkins MK, Smith DH, Dodge DE, Persing DH. Comparison of Phenotypic and Genotypic Techniques for Identification of Unusual Aerobic Pathogenic Gram-Negative Bacilli. *J Clin Microbiol*. 1998 Dec 1;36(12):3674–9.
224. del Rosario Rodicio M, del Carmen Mendoza M. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 2004;22(4):238–45.
225. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*. 1988 Aug;10(4):867–78.
226. Legrand P, Fournier G, Buré A, Jarlier V, Nicolas MH, Decré D, et al. Detection of extended broad-spectrum beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* in four French hospitals. *Dis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1989 Jun;8(6):527–9.

227. Pitout JDD, Reisbig MD, Venter EC, Church DL, Hanson ND. Modification of the Double-Disk Test for Detection of Enterobacteriaceae Producing Extended-Spectrum and AmpC β -Lactamases. *J Clin Microbiol.* 2003 Aug 1;41(8):3933–5.
228. Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum beta-lactamases. *J Clin Microbiol.* 1994;32(3):691–6.
229. Cormican MG, Marshall SA, Jones RN. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains by the Etest ESBL screen. *J Clin Microbiol.* 1996;34(8):1880–4.
230. Katz OT, Peled N, Yagupsky P. Evaluation of the current National Committee for Clinical Laboratory Standards guidelines for screening and confirming extended-spectrum beta-lactamase production in isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* species from bacteremic patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004 Oct 8;23(11):813–7.
231. Coudron PE, Moland ES, Thomson KS. Occurrence and Detection of AmpC Beta-Lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* Isolates at a Veterans Medical Center. *J Clin Microbiol.* 2000 May 1;38(5):1791–6.
232. Shahid M. Phenotypic detection of extended-spectrum and AmpC -lactamases by a new spot-inoculation method and modified three-dimensional extract test: comparison with the conventional three-dimensional extract test. *J Antimicrob Chemother.* 2004 Jul 28;54(3):684–7.
233. Nasim K, Elsayed S, Pitout JDD, Conly J, Church DL, Gregson DB. New Method for Laboratory Detection of AmpC -Lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Clin Microbiol.* 2004 Oct 7;42(10):4799–802.
234. Lee L, Tin S, Kelley ST. Culture-independent analysis of bacterial diversity in a child-care facility. *BMC Microbiol.* 2007;7(1):27.
235. Fang H, Hedin G. Rapid Screening and Identification of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Clinical Samples by Selective-Broth and Real-Time PCR Assay. *J Clin Microbiol.* 2003 Jul 1;41(7):2894–9.
236. Depardieu F, Perichon B, Courvalin P. Detection of the van Alphabet and Identification of Enterococci and Staphylococci at the Species Level by Multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2004 Dec 6;42(12):5857–60.
237. Rasheed JK, Tenover FC. Detection and characterization of antimicrobial resistance genes in bacteria. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology.* 8th Ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2003. p. 1196–212.
238. Briñas L, Lantero M, Zarazaga M, Pérez F, Torres C. Outbreak of SHV-5 β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in a Neonatal-Pediatric Intensive Care Unit in Spain. *Microb Drug Resist.* 2004;10(4):354–8.
239. Perez-Perez FJ, Hanson ND. Detection of Plasmid-Mediated AmpC -Lactamase Genes in Clinical Isolates by Using Multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2002 Jun 1;40(6):2153–62.
240. Monstein H-J, Östholm-Balkhed Å, Nilsson MV, Nilsson M, Dornbusch K, Nilsson LE. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. *APMIS.* 2007;115(12):1400–8.

241. Coelho A, Mirelis B, Alonso-Tarres C, Larrosa MN, Miro E, Abad RC, et al. Detection of three stable genetic clones of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in the Barcelona metropolitan area, Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2009 Jul 22;64(4):862–4.
242. Sabate M. beta-Lactamases involved in resistance to broad-spectrum cephalosporins in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. clinical isolates collected between 1994 and 1996, in Barcelona (Spain). *J Antimicrob Chemother.* 2002 Jun 1;49(6):989–97.
243. Leflon-Guibout V, Jurand C, Bonacorsi S, Espinasse F, Guelfi MC, Duportail F, et al. Emergence and Spread of Three Clonally Related Virulent Isolates of CTX-M-15-Producing *Escherichia coli* with Variable Resistance to Aminoglycosides and Tetracycline in a French Geriatric Hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Sep 23;48(10):3736–42.
244. Birkett CI, Ludlam HA, Woodford N, Brown DFJ, Brown NM, Roberts MTM, et al. Real-time TaqMan PCR for rapid detection and typing of genes encoding CTX-M extended-spectrum -lactamases. *J Med Microbiol.* 2007 Jan 1;56(1):52–5.
245. Coelho A, Piedra-Carrasco N, Bartolomé R, Quintero-Zarate JN, Larrosa N, Cornejo-Sánchez T, et al. Role of *Inch12* plasmids harbouring *bla*VIM-1, *bla*CTX-M-9, *aac*(6′)-Ib and *qnrA* genes in the spread of multiresistant *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* strains in different units at Hospital Vall d’Hebron, Barcelona, Spain. *Int J Antimicrob Agents.* 2012 Jun;39(6):514–7.
246. Bannerman TL, Hancock GA, Tenover FC, Miller JM. Pulsed-field gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 1995 Mar 1;33(3):551–5.
247. Van den Braak N, Power E, Anthony R, Endtz HP, Verbrugh HA, van Belkum A. Random amplification of polymorphic DNA versus pulsed field gel electrophoresis of *Sma*I DNA macrorestriction fragments for typing strains of vancomycin-resistant enterococci. *FEMS Microbiol Lett.* 2000 Nov 1;192(1):45–52.
248. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 1995 Sep 1;33(9):2233–9.
249. Gautam RK. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for typing of *Escherichia coli* O157:H7 and other gram-negative organisms in 1 day. *J Clin Microbiol.* 1997 Nov 1;35(11):2977–80.
250. Abramson JH. WINPEPI (PEPI-for-Windows): computer programs for epidemiologists. *Epidemiol Perspect Innov.* 2004;1(1):6.
251. Sastre JB, Cotallo GD, Colomer BF. Neonatal sepsis of vertical transmission: An epidemiological study from the “Grupo de Hospitales Castrillo.” *J Perinat Med.* 2000;28(4):309–15.
252. Pessoa-Silva C., Meurer Moreira B, Câmara Almeida V, Flannery B, Almeida Lins M., Mello Sampaio J., et al. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit: risk factors for infection and colonization. *J Hosp Infect.* 2003 Mar;53(3):198–206.
253. Beceiro A, Tomas M, Bou G. Antimicrobial Resistance and Virulence: a Successful or Deleterious Association in the Bacterial World? *Clin Microbiol Rev.* 2013 Apr 1;26(2):185–230.
254. Linares-Rodríguez JF, Martínez-Menéndez JL. Resistencia a los antimicrobianos y virulencia bacteriana. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005;23(2):86–93.

ANEXO 2. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS CLÍNICOS Y MICROBIOLÓGICOS

DATOS DEL NIÑO

NOMBRE:
PRIMER APELLIDO:
SEGUNDO APELLIDO:
SEXO: Hombre <input type="checkbox"/> Mujer <input type="checkbox"/>
Nº HISTORIA CLÍNICA:
FECHA DE NACIMIENTO:
FECHA DE INGRESO:
PROCEDENCIA: Maternal VH <input type="checkbox"/> Domicilio <input type="checkbox"/> Otro hospital:
BOX DE INGRESO: UCI <input type="checkbox"/> C. Intermedios <input type="checkbox"/> C. Mínimas <input type="checkbox"/>
FECHA DE ALTA DE LA UNIDAD NEONATAL:
DESTINO AL ALTA: Domicilio <input type="checkbox"/> <i>Exitus</i> <input type="checkbox"/> Otro centro:

DATOS CLÍNICOS

EDAD GESTACIONAL (sem./días):	PESO AL NACIMIENTO (gramos):
TIPO DE PARTO: Vía vaginal <input type="checkbox"/> Cesárea <input type="checkbox"/> Desconocido <input type="checkbox"/>	
TEST DE APGAR AL NACIMIENTO:	pH VASOS UMBILICALES:
PATOLOGÍA DE BASE: (descripción de la enfermedad)	
MOTIVO DE INGRESO	

Procedimientos Invasivo

Ventilación mecánica NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>
Fecha de inicio:
Fecha de retirada:

Nutrición parenteral NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>
Fecha de inicio:
Fecha de retirada:

Sonda nasogástrica NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>
Duración:

Sonda urinaria NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>
Intervención Quirúrgica NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>

CATETERES (ESPECIFICAR TIPO, FECHA Y VÍA DE COLOCACIÓN Y RETIRADA DE CADA UNO DE ELLOS)
1.
2.
3.
4.

ANTIMICROBIANO:
DOSIS:
DURACIÓN DEL TRATAMIENTO:
MOTIVO DE LA ADMINISTRACIÓN:
¿CUMPLE EL TRATAMIENTO EL PROTOCOLO DEL HOSPITAL? NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>

ANTIMICROBIANO:
DOSIS:
DURACIÓN DEL TRATAMIENTO:
MOTIVO DE LA ADMINISTRACIÓN:
¿CUMPLE EL TRATAMIENTO EL PROTOCOLO DEL HOSPITAL? NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>

ANTIMICROBIANO:
DOSIS:
DURACIÓN DEL TRATAMIENTO:
MOTIVO DE LA ADMINISTRACIÓN:
¿CUMPLE EL TRATAMIENTO EL PROTOCOLO DEL HOSPITAL? NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>

ANTIMICROBIANO:
DOSIS:
DURACIÓN DEL TRATAMIENTO:
MOTIVO DE LA ADMINISTRACIÓN:
¿CUMPLE EL TRATAMIENTO EL PROTOCOLO DEL HOSPITAL? NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>

Aislamientos multirresistentes (anotar para cada uno de ellos)

CÓDIGO:	TIPO DE MUESTRA:
GENERO:	
ESPECIE:	
BIOTIPO:	
MECANISMO DE RESISTENCIA SOSPECHADO Y PRUEVAS REALIZADAS	
PULSOTIPO	

CÓDIGO:	TIPO DE MUESTRA:
GENERO:	
ESPECIE:	
BIOTIPO:	
MECANISMO DE RESISTENCIA SOSPECHADO Y PRUEVAS REALIZADAS	
PULSOTIPO	

DATOS DE LA MADRE

FECHA DE INGRESO EN EL HOSPITAL:
NACIONALIDAD: Española NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> (en caso negativo especificar país de origen y tiempo de residencia en el país)
FECHA DE NACIMIENTO:
NÚMERO DE EMBARAZOS PREVIOS: (especificar cuántos a termino)
PATOLOGÍA DE BASE: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> (especificar en caso afirmativo)
EMBARAZO CONTROLADO: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>
ENFERMEDADES U OTRAS INCIDENCIAS DURANTE LA GESTACIÓN: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> (especificar en caso afirmativo)
SCREENING DE <i>S. agalactiae</i> :
TOMA DE ANTIMICROBIANOS EN EL ÚLTIMO MES ANTES DEL PARTO, INTRAPARTO O DUTANTE LA LACTANCIA: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> (especificar tipo, dosis y duración del tratamiento)

ANEXO 3: ANTIBIÓTICOS ESTUDIADOS.

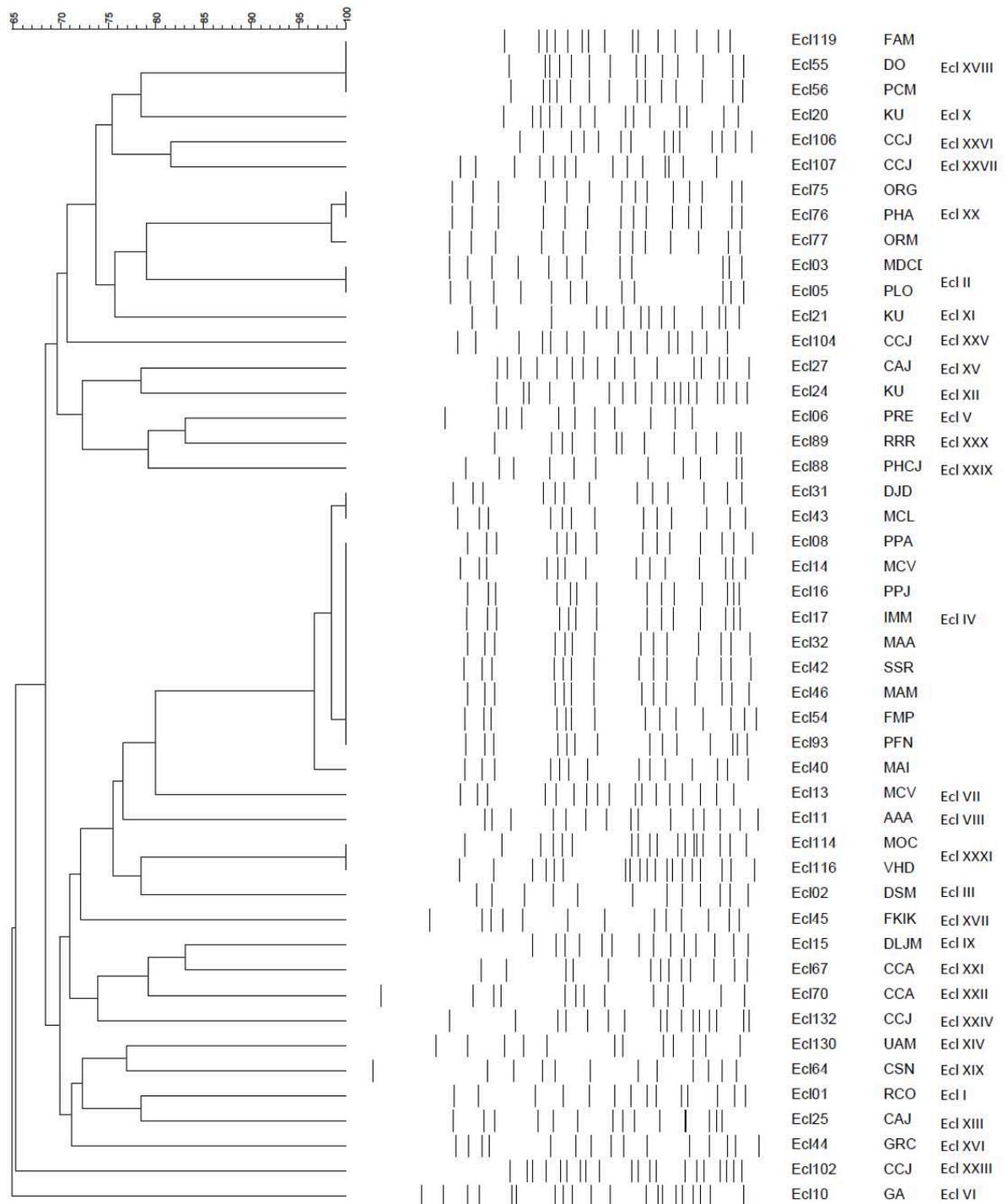
Antibiótico	ESTAF	ENTERO	BGNE	BGNNF
Penicilina	X	X		
Oxacilina	X			
Ampicilina		X	X	
Piperacilina				X
Amoxicilina-clav.			X	
Ampicilina-sulb.				X
Piperacilina-taz.				X
Aztreonam			X	X
Cefalotina			X	
Cefuroxima			X	
Cefoxitina	X		X	
Cefotaxima		X	X	
Ceftazidima			X	X
Cefepime			X	X
Ertapenem			X	
Imipenem			X	X
Meropenem			X	X
Cloranfenicol		X		

Antibiótico	ESTAF	ENTERO	BGNE	BGNNF
Gentamicina	X		X	X
Tobramicina	X		X	X
Kanamicina			X	
Amikacina			X	X
GHC		X		
SHC		X		
Ác. nalidíxico				
Ciprofloxacino	X		X	X
Levofloxacino		X		X2
Fosfomicina			X	X
Colistina			X	X
Linezolid	X	X		
Vancomicina	X	X		
Teicoplanina	X	X		
Eritromicina	X	X		
Clindamicina	X	X		
Rifampicina	X	X		
Tetraciclina		X		X

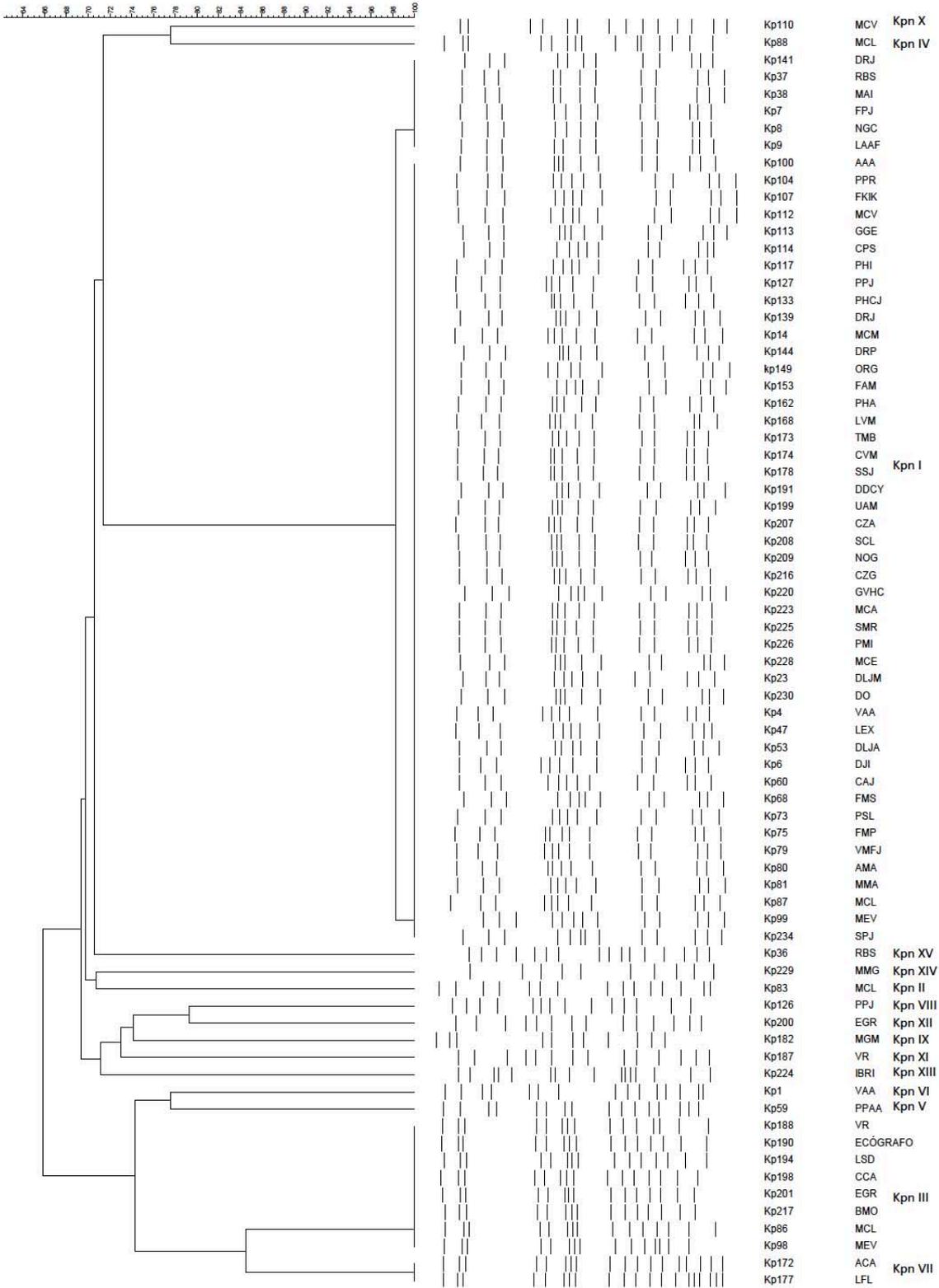
ESTAF: estafilococo; ENTERO: enteroco; BGNE: bacilo gramnegativo enterobacteria; BGNNF: bacilo gramnegativo no fermentador de la glucosa.

ANEXO 4: DENDOGRAMAS PFGE

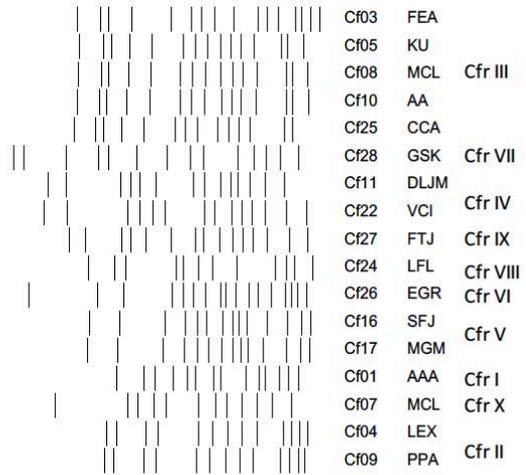
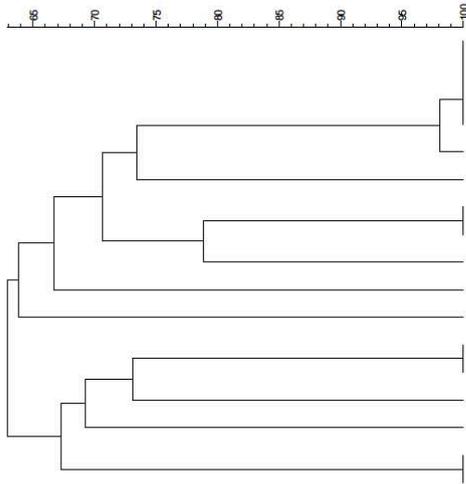
Enterobacter cloacae



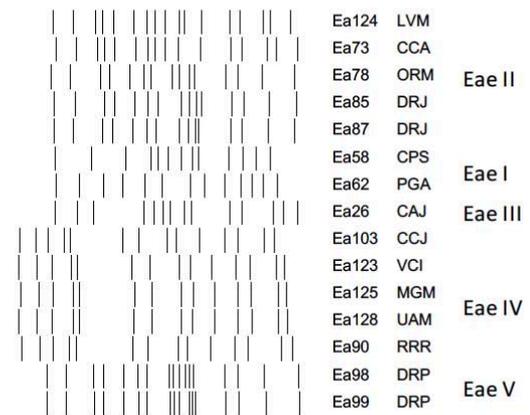
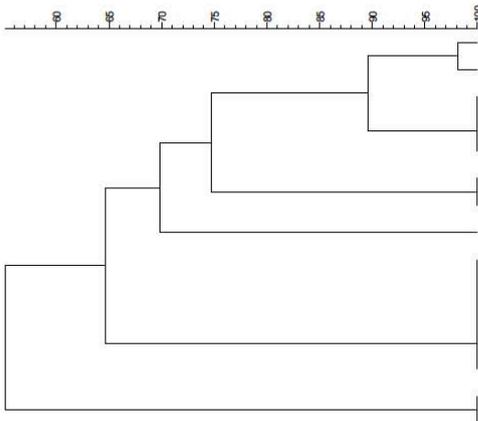
Klebsiella pneumoniae



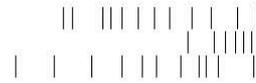
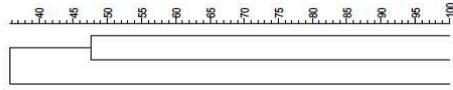
Citrobacter freundii



Enterobacter aerogenes

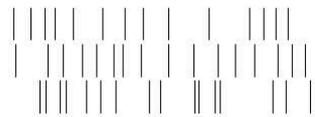
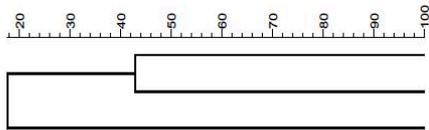


Stenotrophomonas maltophilia



Sm01	PPR	Smp I
Sm03	FFR	Smp III
Sm02	SSJ	Smp II

Klebsiella oxytoca



Ko33	GSJL	Kox II
Ko34	DJI	Kox I
Ko103	PPA	Kox III

ANEXO 5: SCORE DE RIESGO:

Parámetros escogidos:	0 puntos	1 punto	2 puntos
1. Complicaciones fetales intraútero	No	Si	
2. Edad gestacional	>36 sem.	30-36 sem.	24-29 sem.
3. Peso al nacimiento	>2500 g.	1500-2500 g.	<1500 g.
4. Apgar <5	No	Si	
5. Necesidad de ventilación mecánica	No	Si	
6. Necesidad de catéter umbilical	No	Si	
7. Nutrición parenteral	No	Si	
8. Intervención quirúrgica	No	Si	
9. Sospecha de enterocolitis necrotizante	No	Si	
10. Uso previo de cefotaxima	No	Si	
Datos obtenidos:	Mediana	Rango	RIQ*
1. Colonizados rectalmente (n=86)	7	1-11	4-9
2. No colonizados rectalmente (n=90)	3	0-12	2-6
3. Infección sistémica BMR colonizados (n=19)	7	2-11	6-9
4. Infección sistémica BMR no colonizados (n=8)	7	4-11	5-9,3
5. Infección sistémica BMR (n=27)	7	1-11	5,5-9
6. Infección sistémica otras bacterias (n=52)	8	2-11	5-9
7. No infección (n=93)	3	0-12	2-6

