



**Universidad del Azuay**

**Facultad de Medicina**

**Escuela de Medicina**

**Epidemiología de las infecciones por microorganismos  
productores de BLEE en el Hospital Vozandes Quito entre los  
años 2005 y 2009.**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título de Médico.**

**Autoras: Carmen Elisa León Astudillo  
Michele Angely Pacheco Quito**

**Director: Dr. Rodrigo Henríquez.**

**Cuenca, Ecuador  
2010**

Agradecemos al Hospital Vozandes por haber contribuido con nuestro crecimiento profesional y espiritual; al Dr. Rodrigo Henríquez por su apoyo.  
A nuestros padres, por creer en nosotras.

Carmen Elisa  
Michele

## Índice de Contenidos

Agradecimiento.....	I
Índice de Contenidos.....	II
Resumen.....	III
Abstract.....	IV
1. Introducción .....	1
2. Planteamiento del problema y justificación.....	2
3. Marco teórico.....	3
3.1. $\beta$ – lactamasas de espectro extendido.....	3
3.1.1. Definición.....	3
3.1.2. Importancia.....	4
3.1.3. Clasificación .....	4
3.1.4. Prevalencia.....	8
3.1.5. Factores de riesgo para la colonización e infección por microorganismos productores de BLEE .....	10
3.1.6. Métodos de detección.....	11
4. Objetivos.....	14
4.1. Objetivo general .....	14
4.2. Objetivos específicos .....	14
5. Metodología.....	15
5.1. Tipo de estudio.....	15
5.2. Lugar .....	15
5.3. Población y muestra .....	15
5.4. Análisis de datos.....	16
6. Resultados.....	17
6.1. Características del grupo de estudio.....	17
6.2. Prevalencia de BLEE .....	18
6.3. Estudio de cultivos de pacientes con infecciones por microorganismos productores de BLEE.....	21
6.4. Sensibilidad y resistencia a antibióticos no $\beta$ - lactámicos.....	23
7. Discusión.....	27
8. Bibliografía.....	30

## RESUMEN

Las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido son enzimas producidas por microorganismos gram negativos, que confieren resistencia a  $\beta$ -lactámicos como cefalosporinas y aztreonam; además de aminoglucósidos, cloranfenicol y sulfas, limitando las opciones terapéuticas. Este es un estudio descriptivo, retrospectivo, cuyo objetivo es conocer la epidemiología de las infecciones por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en el Hospital Vozandes Quito, de 2005 a 2009. En una población de 8718 pacientes, con una muestra de 1200, se encontró una prevalencia del 3%, con un incremento gradual, (1.1% en el 2005, 5.7% en el 2009). La mayor prevalencia se describió en pacientes hospitalizados, 11.5%. El germen más frecuente fue *Escherichia coli*, (62.5%,n=35), principalmente en orina.

## ABSTRACT

Extended spectrum betalactamases are enzymes produced by gram negative bacteria, that mediate resistance to betalactamic antibiotics such as third generation cephalosporins, aztreonam, and other types like aminoglycosides, cloramphenicol, trimetoprim-sulfametoxazol, which narrows therapeutic options. This is a descriptive and retrospective study, that pretends to describe the infections caused by extended spectrum betalactamases producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* at Vozandes Quito Hospital, from 2005 to 2009. In a total of 8718 patients, with a sample of 1200, we found an overall extended spectrum  $\beta$ -lactamase prevalence of 3%, with a gradual increase (1.1% in 2005, 5.7% in 2009). The highest prevalence was described in hospitalized patients, 11.5%. The most common microorganism was *Escherichia coli* (62.5%, n=35), found especially in urine.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas producidas por varios microorganismos, especialmente por bacilos Gram negativos, que tienen la habilidad para hidrolizar antibióticos  $\beta$ -lactámicos que contienen el grupo oximino como las cefalosporinas de tercera generación y aztreonam. Estas enzimas son inhibidas por los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam.<sup>1,2,3,4.</sup>

Generalmente, las  $\beta$ -lactamasas confieren resistencia a múltiples antibióticos como aminoglucósidos, cloranfenicol, trimetoprim – sulfametoxazol y tetraciclinas<sup>5</sup>.

Existen distintos tipos de BLEE, actualmente se conocen más de 300 clases. Su transmisión está mediada por plásmidos o pueden formar parte del cromosoma de los microorganismos.

Los principales microorganismos que las producen son enterobacterias, dentro de las cuales las más representativas son *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella pneumoniae*.

En los últimos años se ha demostrado un incremento importante en el número de infecciones causadas por bacterias portadoras de BLEE, lo que se refleja en un gran porcentaje de pacientes con falla terapéutica, con una respuesta deficiente a antibióticos tanto  $\beta$ -lactámicos como no  $\beta$ -lactámicos, limitando aún más las opciones de tratamiento, lo que obliga al empleo de antibióticos de amplio espectro<sup>1</sup>.

El presente es un estudio descriptivo, retrospectivo, realizado en el Hospital Vozandes de la ciudad de Quito, Ecuador, sobre la epidemiología de las infecciones por microorganismos productores de BLEE durante el periodo comprendido entre los años 2005 y 2009.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

La resistencia antibiótica es uno de los principales problemas a los que se enfrenta el personal médico, al momento de administrar un tratamiento adecuado y eficaz a sus pacientes. Las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido constituyen una causa creciente y poco reconocida en nuestro medio, de respuesta inadecuada a la medicación.

El conocimiento de la prevalencia de las infecciones causadas por microorganismos productores de  $\beta$ -lactamasas permite un mejor manejo empírico de la población expuesta a los mismos, disminuyendo las probabilidades de fracaso terapéutico, estancia hospitalaria, costos de salud y morbimortalidad de los pacientes. Sin embargo, se desconoce la epidemiología de las infecciones producidas por microorganismos productores de BLEE en Ecuador, posiblemente porque en muchos establecimientos de salud y laboratorios de Ecuador no se realiza la detección de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido, a pesar de la amplia bibliografía que respalda su ejecución.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Beta-lactamasas de espectro extendido

##### 3.1.1. Definición.

Las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son un grupo heterogéneo de enzimas que pertenecen al amplio grupo de  $\beta$ -lactamasas, que median la resistencia a ciertos fármacos como penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos (aztreonam), que actúan hidrolizando el anillo  $\beta$  lactámico de estos fármacos y son inhibidas por los inhibidores de  $\beta$ -lactamasa como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. Están asociadas con resistencia a otros fármacos como tetraciclinas, trimetoprim-sulfametoxazol y cloranfenicol<sup>1,2,3,4,5</sup>.

Estas enzimas son más comúnmente encontradas en microorganismos como *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, sin embargo también son producidas por otros como *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp*, *Salmonella spp*, *Serratia spp*, *Pseudomona aeruginosa*, *Acinetobacter spp*<sup>3,5, 6, 7</sup>.

Las BLEE se encuentran codificadas en plásmidos conjugativos, lo cual permite la diseminación de este mecanismo de resistencia no sólo entre distintas cepas de la misma especie, sino también entre distintas especies bacterianas. Además de su codificación plasmídica, frecuentemente las BLEE forman parte de transposones o integrones, lo cual determina su asociación con otros determinantes genéticos de resistencia transferibles, como los que confieren resistencia a antibióticos, tales como aminoglucósidos o cotrimoxazol<sup>6</sup>.

### 3.1.2. Importancia

La primera BLEE (SHV-2) fue descrita en una cepa de *Klebsiella ozaenae* en Alemania en 1983, desde entonces se ha producido una gran cantidad de brotes epidémicos de enterobacterias con BLEE, sobre todo en unidades de cuidados intensivos (UCI), siendo *K. pneumoniae* la especie más frecuentemente involucrada en este servicio<sup>5</sup>. Como se ha descrito, este tipo de resistencia antibiótica ha sido ampliamente reconocida desde hace más de veinte años y su rápida diseminación ha generado gran preocupación debido a las implicaciones clínicas y terapéuticas que representa, obligando al uso de antibióticos más costosos y de mayor espectro; por último, estas cepas resistentes pueden no ser detectadas mediante los procedimientos microbiológicos de rutina y por tanto generar fallas terapéuticas, en ocasiones fatales.

Además, el uso inicial de una terapia antibiótica inadecuada, especialmente en infecciones hematógenas, aumenta el riesgo de sepsis así como la mortalidad, debido a su agresividad y resistencia a múltiples fármacos<sup>9,10,11,12,13,14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22</sup>.

### 3.1.3. Clasificación

En general, las  $\beta$ -lactamasas se han modificado con el tiempo, creando nuevas clases resistentes a un mayor espectro de antibióticos, es así que desde su aparición, el número de variantes de  $\beta$ -lactamasas ha aumentado considerablemente, actualmente se conocen más de 300<sup>3,8</sup>.

Las  $\beta$ -lactamasas son comúnmente clasificadas de acuerdo con dos esquemas generales: a)El esquema de clasificación molecular de Ambler y b)El esquema de clasificación funcional de Bush-Jacoby-Medeiros<sup>23</sup>.

El esquema de Ambler divide a las  $\beta$ -lactamasas en cuatro grupos mayores (A - D), la base de esta clasificación yace en la similitud proteínica (similitud de aminoácidos) y no en las características fenotípicas. Las  $\beta$ -lactamasas de las clases A, C y D son serino-lactamasas y la clase B, son metalo-lactamasas<sup>23</sup>.

La clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros agrupa a las  $\beta$ -lactamasas de acuerdo a las similitudes funcionales (perfil de sustrato e inhibidor). Existen cuatro grupos mayores y múltiples subgrupos en este sistema. Esta clasificación es de mayor relevancia para el médico o el microbiólogo de un laboratorio diagnóstico, puesto que considera los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas y los sustratos que son clínicamente importantes<sup>23</sup>.

El nombre de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido fue originalmente empleado para reflejar el amplio espectro de sustrato de enzimas derivadas de  $\beta$ -lactamasas de espectro más limitado, especialmente del tipo TEM, SHV u OXA. El término se refiere ahora también a  $\beta$ -lactamasas como las del grupo CTX-M con un fenotipo similar de sustrato, pero distintas características genotípicas<sup>6</sup>.

La clase A de Ambler es la que incluye las enzimas TEM-1, SVH-1. La mayoría de BLEE deriva de estos subtipos. En la actualidad existen más de 90  $\beta$ -lactamasas tipo TEM y más de 25 enzimas tipo SHV. En estos grupos, unas pocas mutaciones en loci seleccionados dentro de un gen dan lugar al fenotipo de “espectro extendido”. Las enzimas TEM y SVH se encuentran más frecuentemente en *E. coli* y *K. pneumoniae*, sin embargo, también se han encontrado en *Proteus* spp., *Providencia* spp., y otros géneros de enterobacterias<sup>24</sup>.

**TEM.** TEM-1, la  $\beta$ -lactamasa de mayor frecuencia en bacterias gram negativas es capaz de hidrolizar penicilinas y cefalosporinas antiguas tales como cefalotina. TEM-2, el primer derivado de TEM-1, tiene una única sustitución de aminoácido de la  $\beta$ -lactamasa original, sin cambiar el perfil de sustratos. TEM-3, originalmente reportada en 1989, fue la primera enzima tipo TEM en exhibir el fenotipo de espectro extendido, desde entonces más de noventa derivados TEM se han descrito. Algunas de estas enzimas son

resistentes a los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas. La mayoría de nuevos derivados TEM son de espectro extendido. Mínimos cambios en las combinaciones de aminoácidos resultan en alteraciones sutiles en los fenotipos de BLEE, tales como la habilidad de hidrolizar cefalosporinas específicas como ceftazidima y cefotaxima<sup>24</sup>.

**SHV.** Las  $\beta$ -lactamasas del tipo SHV podrían ser el tipo de BLEE más frecuentemente encontradas en aislamientos. SHV denota una respuesta variable a los inhibidores sulfhidrilo (*sulfhydryl variable*)<sup>6</sup>. En 1983, un aislamiento de *Klebsiella ozaenae* en Alemania fue descubierto y contenía una  $\beta$ -lactamasa que hidrolizaba eficazmente a la cefotaxima y en menor grado, a la ceftazidima. La secuencia mostró que esta  $\beta$ -lactamasa difería de SHV-1 en el reemplazo de glicina por serina en la posición 238; esta mutación explica por sí sola las propiedades de espectro extendido de esta  $\beta$ -lactamasa denominada SHV-2. En los siguientes 15 años, microorganismos productores de SHV-2 han sido encontrados en todos los continentes. BLEE del tipo SHV han sido detectadas en un amplio rango de Enterobacterias y se han reportado brotes de infecciones por *Pseudomona aeruginosa* y *Acinetobacter spp* con este tipo de enzimas<sup>23</sup>.

**CTX-M.** En años recientes, una nueva familia de BLEE mediada por plásmidos ha aparecido e hidroliza especialmente a la cefotaxima. Estas enzimas se encuentran principalmente en cepas de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium y *E. coli*, pero se han descrito en otras especies de enterobacterias. Estas enzimas no están muy relacionadas con  $\beta$ -lactamasas SHV o TEM, ya que solamente comparten un 40% de similitud con estas  $\beta$ -lactamasas comúnmente aisladas<sup>23</sup>.

Estudios cinéticos han demostrado que las  $\beta$  lactamasas CTX-M hidrolizan cefalotina o cefaloridina mejor que a la benzilpenicilina e hidrolizan preferentemente cefotaxima antes que ceftazidima; por ello, aunque existe cierta hidrólisis de ceftazidima, no es suficiente para causar resistencia clínica<sup>23</sup>.

Microorganismos poseedores de  $\beta$ -lactamasas CTX-M han sido aislados en muchas partes del mundo, pero con mayor frecuencia en Europa este, Sudamérica, y Japón<sup>6</sup>.

**OXA.** Las BLEE del tipo OXA corresponden a la clase molecular D y al grupo funcional 2d. La evolución de las BLEE del tipo OXA a partir de enzimas antiguas de menor espectro tiene mucha similitud con la de enzimas del tipo TEM y SHV. Lamentablemente existe poca información sobre la distribución geográfica de las BLEE del tipo OXA.

Este subtipo confiere resistencia a la ampicilina y cefalotina, se caracteriza por su alta actividad hidrolítica contra la oxacilina y cloxacilina, además de ser pobremente inhibido por ácido clavulánico. Mientras que la mayoría de BLEE se encuentra en *E. coli*, *K. pneumoniae*, y otras *Enterobacteriaceae*, el tipo OXA se ha encontrado principalmente en *P. aeruginosa*. Un tipo adicional de BLEE del tipo OXA se ha descrito, OXA-21, esta enzima se encontró en un aislamiento de *Acinetobacter baumannii*. Debido a que este aislamiento de *A. baumannii* expresa también otras  $\beta$ -lactamasas. No está claro si OXA-21 es una BLEE o una enzima de espectro original<sup>23</sup>.

**Otras BLEE.** La  $\beta$ -lactamasa PER-1 fue descrita inicialmente en aislamientos de *P. aeruginosa* en pacientes de Turquía, más tarde se encontró también en aislamientos de *S. enterica* serovar Typhimurium y *A. baumannii*. Una enzima relacionada, PER-2, con una similitud del 86% con PER-1, se encontró entre aislamientos de *S. enterica* serovar Typhimurium en Argentina<sup>24</sup>.

Otra enzima con cierta relación con PER-1 es la  $\beta$ -lactamasa VEB-1. VEB-1 se describió en un solo aislamiento de *E. coli* en Vietnam, pero fue más tarde encontrada en *P. aeruginosa*, en Tailandia. Una tercera enzima relacionada es CME-1, aislada de

*Chryseobacterium meningosepticum*. Una cuarta enzima es TLA-1, identificada en *E. coli* de un paciente en México. Las  $\beta$ -lactamasas PER-1, PER-2, VEB-1, CME-1, y TLA-1 están relacionadas pero tienen una homología de únicamente un 40 a 50%. Estas enzimas confieren una resistencia a las oxymino-cefalosporinas, especialmente ceftazidima y aztreonam<sup>24</sup>.

#### **3.1.4. Prevalencia**

La prevalencia de microorganismos productores de BLEE cambia entre los diferentes países e incluso entre hospitales de un mismo país, pudiendo tener en algunos una prevalencia baja, mientras que en otros, la misma se encuentra sobre el 40%<sup>6</sup>.

Según un estudio realizado en los años 2000 – 2001, en 34 estados de Estados Unidos, la prevalencia es mayor en UCI que en otras áreas de los hospitales, esto podría deberse a los factores de riesgo implicados en la infección por estos microorganismos<sup>6</sup>.

En un estudio realizado en Estados Unidos, en el periodo comprendido entre el 2000–2002 para determinar la prevalencia de microorganismos productores de BLEE, ésta se encontró en un 74% de los sitios de la unidad de UCI y en 43% de los sitios de otras áreas que no pertenecían a UCI. En este estudio se encontró una prevalencia de BLEE de 3.1% de cultivos en general (UCI y unidades no UCI), una prevalencia de 3.4% en UCI y de 2.6% en unidades fuera de UCI<sup>5</sup>. Los microorganismos que más frecuentemente producían BLEE fueron *K. pneumoniae* (11.3% dentro de los cultivos para este microorganismo), *E. coli* (2.3%), *E. cloacae* (5.5%), *K. oxytoca* (13.1%). No se detectó la producción de BLEE fuera de la familia de las enterobacterias<sup>5</sup>.

La prevalencia de *E. coli* productora de BLEE, según un estudio realizado en España fue de 5.2%, con resistencia a fármacos como cotrimoxazol (68.6%), ciprofloxacino

(72.2%), el 92% de los cultivos positivos para este microorganismo correspondieron a urocultivos, el 5% a hemocultivos, 2% a abscesos, 1% a líquido peritoneal<sup>11,25</sup>.

En un estudio realizado por Harish, Menezes y col, se describe una prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* tan alta como del 97% en infecciones hematológicas en unidades de cuidado intensivo pediátrico, del total de infecciones por este microorganismo<sup>26</sup>.

En un estudio prospectivo, que incluía doce hospitales de Sudáfrica, Argentina, Taiwán, EEUU, Bélgica y Turquía, se encontró una incidencia de un 30% de bacteriemias causadas por *K. pneumoniae* productora de BLEE, mientras que en unidades de cuidados intensivos esta cifra alcanza un 43.5%<sup>27</sup>.

En un estudio realizado en India, estas enzimas se encontraron en 63.6% de *E.coli* y 66.7% de *K. pneumoniae* en cultivos de distintos aislamientos, en la mayoría de casos (57.3%) con dos o más tipos de enzimas en una misma bacteria. Los tipos más comunes de BLEE fueron CTX– M ( 85.4%), TEM (54.9%) y SHV (32.9%), el 100% de enzimas producidas por *E.coli* fueron CTX–M y en 87% de *Klebsiella Pneumoniae*. Según este estudio la edad promedio más frecuente para infección por BLEE fue de 42 años y la relación hombre : mujer fue de 1.86:1, con una estancia hospitalaria de 16.95 días. Se encontró que la resistencia a los distintos antibióticos fue de 14.7% para amikacina (*E. coli* 10.9%, *K. pneumoniae* 23.7%), para gentamicina, 66.7% (*E. coli* 68.1%, *K. pneumoniae* 63.1%), para trimetoprim-sulfametoxazol, 79.1% (*E. coli* 78%, *K. pneumoniae* 81.5%) y para ciprofloxacina, 93.8% (*E. coli* 94.5%, *K. pneumoniae* 92.1%), mientras que meropenem fue sensible en el 100% de los casos. Otros estudios en India reportan una alta prevalencia de producción de BLEE que va desde 41 a 63.6% en *E. coli* y de 40 a 83.3% en *K. pneumoniae*, mientras que en países occidentales la prevalencia de BLEE producidas por enterobacterias fue de 5 a 52%, y en otros países de Asia variaba entre el 10 al 46.5%<sup>3</sup>.

### **3.1.5. Factores de riesgo para la colonización e infección por microorganismos productores de BLEE**

Numerosos estudios de casos y controles se han realizado para identificar los factores de riesgo para colonización e infección por microorganismos productores de BLEE. Los análisis han sido conflictivos debido a diferencias en poblaciones de estudio, selección de casos, selección de controles y tamaño de la muestra; sin embargo, algunas generalizaciones pueden hacerse. Los pacientes con riesgo alto son a menudo pacientes gravemente enfermos, con estancias hospitalarias prolongadas, superiores a 11 días, con múltiples dispositivos invasivos (catéteres urinarios, tubos endotraqueales, líneas centrales) por largos periodos<sup>23, 24, 29, 30</sup>.

En adición a los ya mencionados, existen otros factores de riesgo como el uso de antibióticos en el último mes, principalmente cefalosporinas de tercera generación, así como otros tales como: quinolonas, trimetoprim-sulfametoxazol, aminoglucósidos y metronidazol; uso de tubos nasogástricos, de gastrostomía o yeyunostomía y líneas arteriales, administración de nutrición parenteral total, cirugía reciente, hemodiálisis, úlceras de decúbito y pobre estado nutricional, patologías concomitantes como diabetes, insuficiencia renal (creatinina >2). Contrario a lo que se podía pensar, el uso de  $\beta$ -lactámicos con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas parece no asociarse con infecciones frecuentes por estas bacterias<sup>23,28,31</sup>.

Por otro lado, existe cierta evidencia de que los establecimientos de cuidado pueden ser portales de entrada para microorganismos productores de BLEE en hospitales de cuidado agudo. Así también, pacientes que fueron colonizados en hospitales pueden llevar dichos microorganismos a estas instituciones<sup>32</sup>.

Dentro de las casas de cuidado, el uso de antibióticos es un factor de riesgo para colonización por microorganismos BLEE positivos. En un estudio, un 38% de residentes

en estas instituciones tomó antibióticos en el último mes; además, estos residentes están predispuestos a otras condiciones, como la exposición a la flora bacteriana de otros pacientes especialmente si requieren contacto frecuente con personal de salud. Se ha documentado que las tasas de lavado de manos son bajas entre el personal de estas instituciones. El sondaje vesical y las úlceras de decúbito también son frecuentes<sup>32</sup>.

También se han detectado altas tasas de colonización por microorganismos productores de BLEE hasta en un 70% de contactos de pacientes con infecciones adquiridas en la comunidad, lo que crea un importante reservorio y medio para la dispersión de la resistencia antibiótica en población previamente sana<sup>32</sup>.

### **3.1.6. Métodos de detección**

#### **3.1.6.1 Métodos de tamizaje**

El CLSI, Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos de los EEUU, ha propuesto distintos métodos para el screening de microorganismos productores de BLEE.

**a. Método de la difusión de discos.** Para el screening de la producción de BLEE por *klebsiellae spp*, *Escherichia coli*, y *Proteus mirabilis*, los laboratorios pueden identificar zonas de diámetro específicas que indican un alto nivel de sospecha de producción de BLEE, utilizando antibióticos como cefpodoxima, ceftazidima, aztreonam, cefotaxima, o ceftriaxona; la sensibilidad de la detección mejora cuanto más antibióticos se utilizan. Si alguno de los diámetros indica sospecha de producción de BLEE, se realizan tests de confirmación fenotípica para asegurar el diagnóstico. Thomson notó que la sensibilidad a la cefpodoxima discrimina entre *Klebsiella pneumonia* y *Escherichia coli* productora y no productora de BLEE. En caso de ser positivos deben ser sometidos a confirmación fenotípica<sup>23</sup>.

**b. Screening por tests de susceptibilidad de dilución antimicrobiana.** EL CLSI ha propuesto métodos de dilución para el screening de producción de BLEE por *klebsiellae spp* y *Escherichia coli*. Ceftazidima, aztreonam, cefotaxima o ceftriaxona pueden emplearse con una concentración de 1µg/ml. El crecimiento a esta concentración antibiótica (CIM de la cefalosporina  $\geq 2\mu\text{g/ml}$ ) indica sospecha de producción de BLEE y es indicación para test de confirmación fenotípica<sup>23</sup>.

### **3.1.6.2 Tests de confirmación fenotípica de producción de BLEE.**

Los aislamientos de enterobacterias resistentes a cualquiera de las cefalosporinas indicadoras en las pruebas de screening deben ser sujetos a pruebas de confirmación. Estos tests deben demostrar sinergismo entre clavulanato y la cefalosporina a la cual el aislamiento fue inicialmente resistente. Tres métodos pueden ser empleados:

**a. Test de doble disco (double disc diffusion).** Un medio de cultivo es inoculado en forma similar, los discos que contengan cefotaxima y ceftazidima 30µg, o cefpodoxima 10 µg, son colocados a cualquier lado de un disco con amoxi-clavulánico 20 + 10 µg con una distancia de 25 – 30mm. La producción de BLEE se deduce cuando la zona de cualquiera de las cefalosporinas es incrementada por el clavulanato. La distancia para la detección de los tipos de enzimas varía y pueden no detectarse<sup>33</sup>.

**b. Método de combinación de discos (Oxoid or Becton Dickinson Combination Discs MAST y MAST D52C ESBL).** Estos comparan las zonas de los discos de cefalosporinas con la de los mismos de cefalosporinas más clavulanato. De acuerdo con el distribuidor, ya sea la diferencia en las zonas de diámetro (Oxoid o MAST) o el ratio de los diámetros (Becton Dickinson), es comparada con un aumento en el diámetro de la zona ( $\geq 5\text{mm}$  o  $\geq 50\%$ ), en la presencia de clavulanato es diagnóstico de producción de BLEE. Con este método no es indispensable una separación exacta entre los discos<sup>33</sup>.

**c. Tiras Etest ESBL (AB Biodisk, Bio-Stat).** Estas tiras tienen un gradiente de cefalosporina en un extremo y un gradiente de cefalosporina más clavulanato en el otro. El diagnóstico de BLEE se hace si el ratio de CIM cefalosporina sola : cefalosporina más clavulanato  $\geq 8$ . Estas pruebas son precisas pero de mayor costo<sup>33</sup>.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. General

- Determinar las características epidemiológicas de pacientes que se realizaron cultivos y antibiogramas para la determinación de microorganismos productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en el Hospital Vozandes Quito, durante el periodo comprendido entre el 1 enero de 2005 al 31 de diciembre de 2009.

### 4.2. Específicos

- Describir las características del grupo de estudio según sexo, grupo etario y departamento en el que se encontraba el paciente al momento de la toma de la muestra.
- Determinar la prevalencia de infecciones producidas por microorganismos productores de  $\beta$ -lactamasas en el Hospital Vozandes Quito.
- Identificar los tipos de bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y estimar su frecuencia según sexo, grupo etario y localización de la infección.
- Determinar la resistencia y sensibilidad de las bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido, de acuerdo con los antibióticos empleados en el Hospital Vozandes Quito.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. Tipo de estudio.

Se trata de un estudio epidemiológico descriptivo, retrospectivo de las infecciones causadas por microorganismos productores de BLEE, basadas en el registro de cultivos del laboratorio de microbiología del Hospital Vozandes Quito desde el 1 de enero de 2005 hasta el 31 de diciembre de 2009.

### 5.2. Lugar

El Hospital Vozandes Quito es un hospital privado, sin fines de lucro, ubicado en la ciudad de Quito, Ecuador, con setenta y seis camas para internación, incluyendo seis camas de cuidados intensivos para adultos, dos camas de cuidados coronarios, dos camas para neonatología. Atiende un promedio mensual de 12084 pacientes en consulta externa, 4283 pacientes al mes en emergencia, con un índice de ocupancia en hospitalización de 79.83%.\*

\* **Fuente:** Dirección General del Hospital Vozandes Quito, previa aprobación.

### 5.3. Población y muestra.

#### 5.3.1. Población.

Pacientes que acudieron al laboratorio de microbiología del Hospital Vozandes Quito, para obtención de cultivos de todos los aislamientos y fluidos, cuyos resultados son positivos para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*.

### **5.3.2. Muestra**

En el periodo 2005-2009 se obtuvieron 11355 cultivos positivos para los microorganismos *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* correspondientes a 8718 pacientes. De ellos, se trabajó con una muestra aleatorizada de 1200 pacientes, sus cultivos y antibiogramas. La muestra se obtuvo basándose en la prevalencia más baja, 3%, de infecciones por microorganismos productores de BLEE en la comunidad, descrita en estudios previos<sup>28</sup>.

### **5.4. Análisis de datos.**

La recolección de información se realizó a partir de la base de datos WHONET del laboratorio de microbiología del Hospital Vozandes Quito y el análisis de datos, en Microsoft Excel.

## 6. RESULTADOS

De la población total de 8718 pacientes que se realizaron cultivos y antibiogramas en el Hospital Vozandes Quito en el periodo 2005-2009, se seleccionó aleatorizadamente una muestra de 1200 pacientes para el estudio de la prevalencia de infecciones por microorganismos productores de BLEE y sus características.

### 6.1. Características del grupo de estudio

#### 6.1.1. Sexo, grupo etario y servicio

La mayoría de pacientes corresponde al sexo femenino (n=1038, el 86.5%). La edad osciló entre 7 meses y 99 años; la mayoría tenía edad entre 20 y 44 años (n= 450) y la minoría (n=74), 10 a 19 años. La mayoría de muestras estudiadas corresponde a pacientes ambulatorios (Consulta externa, Emergencia) (n: 1043, 86.9%), de los cuales la mayor parte corresponde al grupo etario entre 20 a 44 años (n=416) (Tabla 1).

Tabla 1. Características de la población de estudio.

	Sexo				Servicio				Total	
	Femenino		Masculino		Hospitalización		Ambulatorio		n	%
Edad	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 10	113	89	14	11	6	4,7	121	95,3	127	100.0
10 a 19	69	93,2	5	6,8	6	8,1	68	91,9	74	100.0
20 a 44	404	89,8	46	10,2	34	7,6	416	92,4	450	100.0
45 a 64	219	86,6	34	13,4	34	13,4	219	86,6	253	100.0
≥ 65	233	78,7	63	21,3	77	26	219	74	296	100.0
<b>Total</b>	1038	86,5	162	13,5	157	13,1	1043	86,9	1200	100.0

¥ uci, hospitalización general.

£ Emergencia, consulta externa

**Fuente: Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.**

**Elaborado por las autoras.**

## 6.2. Prevalencia de BLEE

En el grupo de estudio se identificó a 36 pacientes con cultivo positivo para BLEE, esto representó el 3% (Tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia de BLEE en la muestra de estudio.  
Hospital Vozandes Quito, 2005-2009

<b>Cultivo para BLEE</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Positivo</b>	36	3
<b>Negativo</b>	1164	97
<b>Total</b>	1200	100.0

**Fuente:** Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.  
**Elaborado por las autoras.**

### 6.2.1. Prevalencia de BLEE según sexo

Entre las personas de sexo femenino (n= 1038) se encontró a 23 con cultivo positivo para BLEE, el 2.2%, y entre las de sexo masculino (n= 162) a 13, el 8% (Tabla 3).

Tabla 3. Prevalencia de infecciones por Microorganismos productores de BLEE según sexo. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009

<b>Sexo</b>	<b>BLEE</b>					
	<b>Positivo</b>		<b>Negativo</b>		<b>Total</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Femenino</b>	23	2.2	1015	97.8	1038	100.0
<b>Masculino</b>	13	8	149	92.	162	100.0
<b>Total</b>	36	3	1164	97	1200	100.0

**Fuente:** Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.  
**Elaborado por las autoras.**

### 6.2.2. Prevalencia de infecciones por microorganismos BLEE positivos según grupo etario

Se encontró una mayor prevalencia en pacientes mayores de 65 años (n: 296, 6.8%) (Tabla 4).

Tabla 4. Prevalencia de pacientes con infecciones por Microorganismos BLEE + según edad. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009

Grupo etario (años)	BLEE					
	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
< 10	2	1.6	125	98.4	127	100.0
10 -19	2	2.7	72	97.3	74	100.0
20-44	6	1.4	444	98.6	450	100.0
45-64	6	2.4	247	97.6	253	100.0
≥ 65	20	6.8	276	93.2	296	100.0
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>3</b>	<b>1164</b>	<b>97</b>	<b>1200</b>	<b>100.0</b>

Fuente: Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.

Elaborado por las autoras.

### 6.2.3. Aislamientos por servicio

En un 11.5% de pacientes hospitalizados (uci + hospitalización general) con infecciones por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* se aislaron microorganismos BLEE +, comparado con un 1.7% de pacientes ambulatorios (Tabla 5).

Tabla 5. Aislamiento de Microorganismos BLEE + según servicio. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009

Departamento de la toma de la muestra	BLEE					
	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Ambulatorios <sup>£</sup>	18	1.7	1025	98.3	1043	100.0
Hospitalización <sup>¥</sup>	18	11.5	139	88.5	157	100.0
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>3</b>	<b>1164</b>	<b>97</b>	<b>1200</b>	<b>100.0</b>

¥ uci, hospitalización general.

£ Emergencia, consulta externa

**Fuente: Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.**

**Elaborado por las autoras.**

#### 6.2.4. Prevalencia de BLEE por año.

En general, se evidencia un incremento progresivo desde el año 2005, excepto por el año 2008, donde se describe una baja prevalencia en comparación con los otros (Tabla 6).

Tabla 6. Prevalencia de infecciones por microorganismos BLEE + por año. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009.

Año	BLEE					
	Positivo		Negativo		Total	
	n	%	n	%	n	%
<b>2005</b>	2	1.1	183	98.9	185	100.0
<b>2006</b>	6	3	192	97	198	100.0
<b>2007</b>	8	3.1	253	96.9	261	100.0
<b>2008</b>	2	0.9	239	99.1	241	100.0
<b>2009</b>	18	5.7	297	94.3	315	100.0
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>3</b>	<b>1164</b>	<b>97</b>	<b>1200</b>	<b>100.0</b>

¥ uci, hospitalización general.

£ Emergencia, consulta externa

**Fuente: Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.**

**Elaborado por las autoras.**

### 6.2.5. Año de toma de muestra

La mayoría de cultivos con microorganismos productores BLEE se obtuvo en el año 2009 (Tabla 7).

Tabla 7. Distribución del grupo de estudio, según el año en el que acudieron al Departamento de Microbiología para toma de la muestra. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009

<b>Año</b>	<b>Cultivos (pacientes)</b>	<b>%</b>
<b>2005</b>	3 (2)	5.36
<b>2006</b>	7 (6)	12.5
<b>2007</b>	13 (8)	23.2
<b>2008</b>	4 (2)	7.1
<b>2009</b>	29 (18)	51.8
<b>Total</b>	<b>56 (36)</b>	<b>100.0</b>

**Fuente: Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.  
Elaborado por las autoras.**

### 6.3. Estudio de cultivos de pacientes con infecciones por microorganismos productores de BLEE

En la muestra se obtuvo un total de 56 cultivos correspondientes a los 36 pacientes.

#### 6.3.1. Tipo de fluido corporal o localización en el que se aisló microorganismos productores de BLEE

La mayoría de muestras para cultivos y antibiogramas, fue tomada de orina (n=19, el 33.8%) (Tabla 8).

Tabla 8. Sitios de aislamiento de microorganismos BLEE positivos. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009

<b>Muestra</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Orina</b>	19	33.8
<b>Espuito, aspirado traqueal</b>	12	21.4
<b>Úlceras, heridas</b>	11	19.6
<b>Sangre</b>	3	5.4
<b>Secreciones</b>	3	5.4
<b>Otros</b>	3	5.4
<b>Absceso</b>	2	3.6
<b>Catéter, dren</b>	2	3.6
<b>Hueso</b>	1	1.8
<b>Total</b>	56	100.0

**Fuente:** Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.

**Elaborado por las autoras.**

### 6.3.2. Tipo de germen aislado

El germen más frecuentemente aislado fue *Escherichia coli* (n= 35, el 62.5%). No existió aislamientos de *Klebsiella oxytoca* productora de BLEE (Tabla 9).

Tabla 9. Distribución del grupo de estudio, según el germen aislado en los cultivos de Microorganismos BLEE positivos. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009.

<b>Tipo de germen</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<i>Escherichia coli</i>	35	62.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21	37.5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0
<b>Total</b>	56	100.0

**Fuente:** Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.

**Elaborado por las autoras.**

### 6. 3.3. Microorganismos cultivados según aislamiento

El microorganismos más frecuentemente aislado es *Escherichia coli* en orina ( n: 19, 89.5%) (Tabla 10).

Tabla 10. Microorganismos productores de BLEE según aislamiento.  
Hospital Vozandes Quito, 2005-2009.

Aislamiento	Microorganismo					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Total	
	n	%	n	%	n	%
Orina	17	89.5	2	10.5	19	100.0
Espuito, aspirado traqueal	3	25	9	75	12	100.0
Úlceras, heridas	8	72.7	3	27.3	11	100.0
Sangre	3	100	0	0	3	100.0
Secreciones	1	33.3	2	66.7	3	100.0
Otros	2	66.7	1	33.3	3	100.0
Absceso	1	50	1	50	2	100.0
Catéter, dren	0	0	2	100	2	100.0
Hueso	0	0	1	100	1	100.0
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>62.5</b>	<b>21</b>	<b>37.5</b>	<b>56</b>	<b>100.0</b>

**Fuente: Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.  
Elaborado por las autoras.**

### 6. 4. Sensibilidad y resistencia a antibióticos no $\beta$ -lactámicos

Los cultivos de microorganismos productores de BLEE, obtenidos en el Hospital Vozandes Quito, tienen una sensibilidad de 100% a imipenem, un poco menor en el caso de meropenem. Persiste una sensibilidad aceptable a antibióticos aminoglucósidos como la amikacina (Tabla 11).

Tabla 11. Patrones de sensibilidad y resistencia antibiótica de los microorganismos productores de BLEE. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009

	<b>Sensible</b>		<b>Resistente</b>		<b>Total</b>	
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Imipenem</b>	56	100	0	0	56	100.0
<b>Meropenem</b>	53	98.1	1	1.9	54	100.0
<b>Fosfomicina</b>	16	84.2	3	15.8	19	100.0
<b>Amikacina</b>	46	83.6	9	16.4	55	100.0
<b>Nitrofurantoína</b>	14	77.8	4	22.2	18	100.0
<b>Gentamicina</b>	39	69.7	17	30.3	56	100.0
<b>Piperazilina-tazobactam</b>	32	59.2	22	40.8	54	100.0
<b>TMP-SMX</b>	14	25	42	75	56	100.0
<b>Ciprofloxacino</b>	11	20	44	80	55	100.0
<b>Ampicilina-sulbactam</b>	8	14.3	48	85.7	56	100.0
<b>Norfloxacino</b>	2	10.5	17	89.5	19	100.0
<b>A. Nalidíxico</b>	1	5.6	17	94.4	18	100.0

**Fuente:** Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET.  
**Elaborado por las autoras.**

#### 6.4.1. Patrones de sensibilidad y resistencia antibiótica por microorganismo.

Tabla 12. Patrones de sensibilidad y resistencia antibiótica de *Escherichia coli* productora de BLEE. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009

<b>Antibiótico</b>	<b>Sensible</b>	<b>Resistente</b>	<b>Total</b>
<b>Imipenem</b>	35	0	35
<b>Meropenem</b>	35	0	35
<b>Fosfomicina</b>	14	3	17
<b>Amikacina</b>	28	7	35
<b>Nitrofurantoína</b>	12	4	16
<b>Gentamicina</b>	26	9	35
<b>Piperazilina-tazobactam</b>	15	19	34
<b>Norfloxacino</b>	2	15	17
<b>TMP-SMX</b>	3	32	35
<b>A. Nalidíxico</b>	1	15	16
<b>Ciprofloxacino</b>	1	34	35
<b>Ampicilina-sulbactam</b>	0	35	35

**Fuente:** Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET  
**Elaborado por las autoras.**

Tabla 13. Patrones de sensibilidad y resistencia antibiótica de *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE. Hospital Vozandes Quito, 2005-2009.

<b>Antibiótico</b>	<b>Sensible</b>	<b>Resistente</b>	<b>Total</b>
<b>Fosfomicina</b>	2	0	2
<b>Nitrofurantoína</b>	2	0	2
<b>Imipenem</b>	21	0	21
<b>Meropenem</b>	18	1	19
<b>Amikacina</b>	18	2	20
<b>Piperazilina-tazobactam</b>	17	3	20
<b>Gentamicina</b>	13	8	21
<b>TMP-SMX</b>	11	10	21
<b>Ciprofloxacino</b>	10	10	20
<b>Ampicilina-sulbactam</b>	8	13	21
<b>Norfloxacino</b>	0	2	2
<b>A. Nalidíxico</b>	0	2	2

**Fuente:** Base de datos del Departamento de Microbiología Hospital Vozandes Quito. WHONET  
**Elaborado por las autoras.**

## 7. DISCUSIÓN

La creciente frecuencia de infecciones causadas por microorganismos productores de BLEE entre pacientes, tanto hospitalizados como ambulatorios, constituye un importante problema para el personal médico, por la dificultad para detectar, reportar y tratar dichas infecciones.

La prevalencia obtenida en nuestro estudio, 3%, es menor a la reportada en estudios extranjeros, en los que se demuestra una prevalencia de hasta un 5.2%; pero similar a otros que muestran una prevalencia de 3.1%<sup>6, 25</sup>. La prevalencia descrita en el Hospital Vozandes para pacientes ambulatorios, de 1.7%, es menor a la obtenida en estudios como el de Luzarro y col, con una prevalencia del 3.5%. Sin embargo, se demuestra una mayor prevalencia en pacientes hospitalizados, 11.5%, comparada con un 7.4% obtenida en dicho estudio, tomando en cuenta a todas las enterobacterias en las que se realiza detección de BLEE<sup>28</sup>.

La mayor prevalencia se encontró en el grupo de pacientes de 65 años y más (6.8%) y en pacientes hospitalizados, en comparación con pacientes ambulatorios, lo que podría explicarse por los factores de riesgo asociados, patologías concomitantes, tales como Diabetes Mellitus, neoplasias sólidas y hematológicas, insuficiencia renal, administración previa de antimicrobianos, etc, como se ha demostrado en múltiples estudios<sup>3, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 23</sup>.

El mayor número de cultivos con microorganismos productores de BLEE perteneció a *Escherichia coli* con un 62.5%, correspondientes en su mayor parte a infecciones del tracto urinario (89.5%), probablemente debido a la administración empírica de fármacos antimicrobianos para esta patología, lo que constituye uno de los factores de riesgo más

importantes para la adquisición de infecciones por dichos microorganismos. En un estudio realizado en España, el 92% de los cultivos positivos para *Escherichia coli* fueron urocultivos<sup>11</sup>.

En este estudio se demuestra además un incremento en la prevalencia de las infecciones por estos microorganismos en los últimos años. En el año 2005 la misma fue de 1.1% del total de pacientes de la muestra con cultivos obtenidos en ese año, mientras que en el año 2009 se evidencia una prevalencia del 5.7%; estos resultados se deben probablemente a la diseminación de estas bacterias en la comunidad, así como al aumento de número de cultivos y realización de la prueba.

La terapia para infecciones causadas por enterobacterias productoras de BLEE es usualmente difícil, ya que estos organismos no son únicamente resistentes a las penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos, como se pensaba, sino que además presentan resistencia a otros fármacos como tetraciclinas, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol y quinolonas<sup>1,2,3,4,5,23,24,34</sup>. En nuestro estudio, se demuestra una resistencia de hasta un 44% a quinolonas como el ciprofloxacino, menor a la mencionada en un estudio realizado en India (93.8%); 75% para trimetoprim-sulfametoxazol, similar a la encontrada en el estudio antes mencionado de 79.1%, los cuales constituían, hasta hace pocos años, opciones de primera línea en el caso de infecciones leves por esta clase de bacterias. Nuestros resultados son comparables a los obtenidos en estudios como el de Morosini y col, en el que se obtiene una resistencia a ciprofloxacino del 37.2%, y 61.7% a sulfas, mientras que la amikacina mostraba una resistencia de 6.7%, en nuestro estudio la resistencia a este fármaco fue de 16.4%<sup>35</sup>. Afortunadamente, en los aislamientos de nuestra comunidad existe una sensibilidad de 100% a antibióticos de amplio espectro como el imipenem y un 98.1% a meropenem, similar a la obtenida en el estudio de Goyal y col, lo que constituye una opción terapéutica en casos de infecciones graves por productores de BLEE<sup>3,35</sup>.

Además, como se conoce, la utilización de antibacterianos ineficaces e inadecuados para el tratamiento de estos microorganismos, así como el uso indiscriminado de los mismos, aumenta la producción y diseminación de estas bacterias en la comunidad.

La implementación de la detección de estos microorganismos evita indirectamente el empleo de fármacos inadecuados, disminuye las tasas de morbimortalidad causadas por estas especies y los costos de terapia.

Los resultados obtenidos en este estudio son una base para nuevas investigaciones en las que se determine además de la prevalencia, factores de riesgo para la adquisición de dichas infecciones. Por otro lado, debería implementarse la detección del tipo de  $\beta$ -lactamasa producido, ya que de esta manera se conocería en forma general el patrón de resistencia y sensibilidad de los microorganismos involucrados en las infecciones de la comunidad.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ena J, Arjona F, Martinez-Peinado C, Lopez-Perezagua M, Amador C. Epidemiology of urinary tract infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Urology* 2006; 68(6):1169-1174.
2. Hawser S, Bouchillon S, Hoban D, Badal R, Hsueh P, et al. Emergence of high levels of extended-spectrum-beta-lactamase-producing gram-negative bacilli in the Asia-Pacific region: data from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program, 2007. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(8):3280-3284.
3. Goyal A, Prasad K, Prasad A, Gupta S, Ghoshal U, et al Ayyagari A. Extended spectrum b-lactamases in *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* & associated risk factors. *Indian J Med Res* 2009; 129: 695 – 700.
4. Bradford P. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21<sup>st</sup> century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol* 2001; 14 : 933-951.
5. Moland E, Hanson N, Black J, Hossain A, Song W, Thomson K. Prevalence of Newer B-Lactamases in Gram-Negative Clinical Isolates Collected in the United States from 2001 to 2002. *Clin Microbiol*. 2006; 44,(9):3318–3324.
6. Jacoby G, Munoz-Price L. The New *b* – Lactamases. *N Engl J Med* 2005;352: 380-391.
7. Emery CL, Weymouth LA. Detection and clinical significance of extended- spectrum  $\beta$ -lactamases in a tertiary-care medical center. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2061-2067.

8. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* Oct 2005; 18: 657-686.
9. Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, et al. Comparative analysis of extended-spectrum-beta-lactamase carrying plasmids from different members of *Enterobacteriaceae* isolated from poultry, pigs and humans: evidence for a shared beta-lactam resistance gene pool?. *J. Antimicrob Chemother* 2009; 63: 1286–1300.
10. Rodríguez J, López L, Navarro M, Díaz de Alba P, Pascual A. Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: prevalence, risk factors and molecular epidemiology. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 1142–1149.
11. Rodríguez J, Alcalá J, Cisneros J, Grill F, Oliver A, et al. Community Infections Caused by Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med.* 2008; 168 (17):1897-1902.
12. Lautenbach E, Patel J, Bilker W, Edelstein P, Fishman N. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes *Clin. Infect. Dis* 2001; 32: 1162–1171.
13. Pena C, Pujol M, Ricart M, Ardanuy C, Ayats J et al. Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. *J. Hosp. Infect* 1997;35: 9–16.
14. Schwaber M, Navon-Venezia S, Kaye K, Ben-Ami R, Schwartz D et al. Clinical and economic impact of bacteremia with extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:1257–1262.
15. Tumbarello M, Spanu M, Sanguinetti R, Citton R, Montuori E et al. Bloodstream infections caused by extended spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella*

*pneumoniae*: risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. *Antimicrob. Agents Chemother* 2006; 50:498–504.

16. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Enrico M, Trecarichi, et al. Predictors of Mortality in Patients with Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*: Importance of Inadequate Initial Antimicrobial Treatment. *Antimicrob. Agents Chemother* 2007; 51: 1987–1994.

17. Endimiani A, Luzzaro F, Brigante G, Perilli M, Lombardi G et al. *Proteus mirabilis* bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to the expression of extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother* 2005; 49: 2598–2605.

18. Anderson D, Engemann J, Harrell L, Carmeli Y, Reller L et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infection due to ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother* 2006; 5:1715–1720.

19. Lautenbach E. Impact of inadequate initial antimicrobial therapy on mortality in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: variability by site of infection. *Arch. Intern. Med* 2005; 165: 175–180.

20. Choe K. Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4574–4581.

21. Tsay R, Siu L, Fung C, Chang F. Characteristics of bacteremia between community-acquired and nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infection: risk factor for mortality and the impact of capsular serotypes as a herald for community-acquired infection. *Arch. Intern. Med* 2002; 162:1021–1027.

22. Karlowsky J , Kelly L , Thornsberry, Jones M, Sahn D. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from female outpatients in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:2540–2545.
- 23 Paterson, Bonomo, Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: a Clinical Update 2005. *Clin. Microbiol. Rev.* 18(4):657-686.
24. Bradford P. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001 October; 14(4): 933–951.
25. Andreu A, Planells I. Etiología de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad y resistencia de *Escherichia coli* a los antimicrobianos de primera línea. Estudio nacional multicéntrico. *Med Clin* 2008; 481-486
26. Harish B, Menezes G, Shekatkar S, Parija S. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* from blood culture. *J Med Microbiol* 56 (2007), 999-1000.
27. Paterson D, Ko W, Gottberg A, Mohapatra S, Casellas J et al. International Prospective Study of *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Implications of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase Production in Nosocomial Infections. *Ann Intern Med.* 2004;140:26-32.
28. Luzzaro F, Mezzatesta M, Mugnaioli M, Perilli M, Stefani S et al. Trends in Production of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases among Enterobacteria of Medical Interest: Report of the Second Italian Nationwide Survey. *Journal of Clinical Microbiology.* 2006, 44: 1659-1664.
29. Asensio A. Oliver P. Gonzalez-Diego F. Baquero J. Perez-Diaz P et al. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. *Clin. Infect. Dis.* 2000; 30:55–60.

30. Bisson G, Fishman J, Patel P, Edelstein, Lautenbach E. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2002. 23:254–260.
31. Ho P, Chan W, Tsang K, Wong S, Young K. Bacteremia caused by *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ lactamase: a case-control study of risk factors and outcomes. *Scand. J. Infect. Dis.* 2002.34:567–573.
32. Valverde A, Grill F, Coque T, Pintado V, Baquero F et al. High Rate of Intestinal Colonization with Extended-Spectrum B Lactamase-Producing Organisms in Household Contacts of Infected Community Patients. *Clin Microbiol.* 2008;46 (8): 2796–2799.
33. Health Protection Agency. Laboratory detection and reporting of bacteria with extended spectrum b lactamases. National Standard Method  $\beta$  – Lactamases. 2008. QSOP 51 Issue 2.2.
34. Tumbarello M, Sali M, Treccarichi E, Leone F, Rossi M et al, Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli*: Risk Factors for Inadequate Initial Antimicrobial Therapy. *Antimicrob Agents and Chemother* 2008; 52(9): 3244–3252.
35. Morosini M, García M, Coque T, Valverde A, Novais A et al . Antibiotic Coresistance in Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* and In Vitro Activity of Tigecycline. *Antimicrob Agents and Chemotherapy.* 2006; 50 (8): 2695–2699.