

Ana M^a García-Hernández¹,
Elisa García-Vázquez^{1,3},
Alicia Hernández-Torres¹,
Joaquín Ruiz²,
Genoveva Yagüe²,
José Antonio Herrero^{1,3},
Joaquín Gómez^{1,3}

Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales

¹Servicios de MI-Infecciosas, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca.

²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca.

³Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina. Universidad de Murcia.

RESUMEN

La resistencia bacteriana es un problema antiguo pero de gran actualidad, ya que en un marco de "austeridad" en cuanto al número de nuevas moléculas de antibiótico disponibles en el mercado, la presencia de microorganismos multirresistentes es cada vez más frecuente. *E. coli* es el microorganismo más frecuentemente implicado en bacteriemias nosocomiales y comunitarias, y el aislamiento de cepas productoras de BLEE se sitúa en torno al 10% en nuestro país. Las infecciones por *E. coli* con BLEE han experimentado importantes cambios epidemiológicos en los últimos tiempos y actualmente la atención se centra en el aumento de infecciones y colonizaciones en pacientes procedentes de la comunidad, sobre todo en relación con instituciones sanitarias, y la mayor incidencia de las CTX-M frente a otros tipos de BLEE. El papel de estas enzimas como factor de virulencia que aumente por sí mismo la mortalidad en los pacientes con bacteriemia por *E. coli* no queda claro. La principal repercusión clínica de las BLEE parece ser la mayor frecuencia con la que estos pacientes con infecciones graves reciben un tratamiento empírico inadecuado, de ahí la importancia de identificar qué factores predicen la presencia de una cepa con BLEE para poder ofrecer un tratamiento adecuado lo antes posible. En cuanto a las medidas de control de la diseminación de BLEE, la eficacia del aislamiento de contacto y la actuación frente a pacientes colonizados por *E. coli* con BLEE no están claras, pero es incuestionable la necesidad de implementar un uso correcto y responsable de los antibióticos para evitar la expansión de cepas resistentes.

Palabras clave: *Escherichia coli*; betalactamasas de espectro extendido; bacteriemia; BLEE

Bacteraemia due to *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBL): clinical relevance and today's insights

ABSTRACT

Antibiotic resistance is an old problem with new face as the rate of infections due to multidrug resistant bacteria is higher everyday and the number of new antibiotics to overwhelm the problem is becoming smaller. *E. coli* is the most frequent agent causing nosocomial or community-acquired bacteraemia being in our country 10% of them extended-spectrum betalactamases (ESBL) producing *E. coli* isolates. Nowadays the number of community-acquired or health-related infections caused by these ESBL producing *E. coli* is increasing. CTX-M has also become the most frequent ESBL compared to other enzymes. The role of these enzymes as a virulence factor increasing mortality in patients with bacteraemia due to *E. coli* is not well defined. The relevance of ESBL-*E. coli* seems to be related with the higher frequency of inadequate treatment and therefore the importance of identifying factors or features that might predict that the patient's infection is due to one of these isolates.

In terms of prevention and control of infection measures, the role of patient's isolation is not clear but a proper prescription of antibiotics and antibiotic control policies are probably important to reduce the problem.

Key words: *Escherichia coli*; extended-spectrum beta-Lactamases; Bacteraemia; ESBL

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana puede definirse como la capacidad de un microorganismo para crecer en presencia de un antimicrobiano a dosis terapéuticas¹. Desde que en 1928 el bacteriólogo británico Alexander Fleming descubriera la penicilina hasta la época actual, el desarrollo de la antibioterapia ha permitido cambiar el curso de las enfermedades infecciosas.

Correspondencia:
Servicios de MI-Infecciosas,
Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca.
Elisa García-Vázquez
Ctra. Madrid-Cartagena
30120 El Palmar (Murcia)
Telf: 968 36 94 88

Fax: 968 36 96 78
Email: elisag@eresmas.net

Sin embargo, el uso de antibióticos se ha extendido sobremanera, tanto en el campo de la medicina humana como en veterinaria y agricultura lo cual, ha traído consigo nuevas dificultades en la lucha frente a las infecciones: las resistencias bacterianas.

Los antibióticos están presentes en la naturaleza como productos metabólicos de algunos microorganismos, de manera que la resistencia a los mismos puede surgir como un fenómeno natural que permite su supervivencia¹. De hecho, la primera descripción de betalactamasas en una bacteria, concretamente en *Escherichia coli*, se hizo antes de que el primer betalactámico (la penicilina) fuese empleado de forma generalizada en la práctica médica². No obstante, el uso no siempre racional y muchas veces inadecuado de los antibióticos, ha hecho que este proceso de selección, lógico e inevitable según la teoría Darwiniana como apunta Campos et al.³ se haya visto sometido a una mayor presión, de manera que ha "exagerado" la ventaja en el crecimiento de las cepas resistentes. Nos encontramos por tanto, en lo que algunos autores llaman "la era postantibiótica"⁴ y así, aunque ya en 1961 el comité de Expertos sobre Antibióticos de la Organización Mundial de la Salud manifestaba que "La resistencia bacteriana a los antibióticos es el principal obstáculo para su uso con éxito" y, "a la larga es más importante su efecto sobre la comunidad, ya que la eliminación de las cepas sensibles implica diseminación de las resistentes"¹, casi cincuenta años después, continúa siendo un problema de gran actualidad.

Dentro de los mecanismos de resistencia bacteriana destaca el de las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), cuya aparición en los años ochenta se atribuyó al uso masivo de cefalosporinas de amplio espectro y aztreonam. Son una familia de enzimas producidas por bacilos gramnegativos, que en su mayoría derivan de las betalactamasas clásicas TEM y SHV a partir de una serie de mutaciones puntuales que afectan a su centro activo. Se han descrito fundamentalmente en cepas de *E. coli*, *Klebsiella* spp. y *Enterobacter* spp, aunque también en microorganismos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa*⁵.

Estas enzimas confieren resistencia a un gran número de antibióticos de uso común como penicilina, ampicilina, cefalosporinas de cualquier generación (excepto cefamicinas), aztreonam y, en un porcentaje no desdeñable de casos también a los betalactámicos asociados a inhibidores de betalactamasas, aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol⁶. Este patrón de multiresistencia supone una dificultad terapéutica, que explica su asociación en numerosos estudios con mayor mortalidad, duración de la estancia hospitalaria y coste económico⁶⁻¹¹. Si a ello unimos la tendencia restrictiva en cuanto al número de nuevas moléculas de antibiótico aprobadas por la FDA en los últimos años, podemos vislumbrar cuán importante es evitar la aparición de resistencias^{12,13}.

La presencia de *E. coli* con BLEE se asoció inicialmente a brotes nosocomiales en grandes hospitales, principalmente en áreas de cuidados intensivos y quirúrgicas. Sin embargo, los últimos trabajos publicados centran su atención en los aislamientos en infecciones adquiridas en la comunidad, brotes en unidades de cuidados crónicos y asilos, así como en muestras de orina y heces de portadores sanos^{6,7,14-17}.

No obstante, no debemos olvidar que *E. coli* es el gramnegativo más frecuentemente implicado en bacteriemias tanto adquiridas en la comunidad^{18,19} como nosocomiales^{1,20} por lo que en pacientes hospitalizados que con frecuencia presentan enfermedades de base graves, hay que extremar las medidas de prevención para evitar la aparición de infecciones por cepas resistentes que dificulten su tratamiento.

RESISTENCIA MEDIADA POR BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

Los betalactámicos son antibióticos de acción bactericida que actúan sobre la fase final de síntesis del peptidoglicano. Actúan como sustratos competitivos de distintas enzimas participantes en la síntesis de membrana, esencialmente de las transeptidasas denominadas proteínas fijadoras de penicilina (PBP), ya que presentan una similitud estructural con el extremo D-alanina-D-alanina del pentapéptido que enlaza las cadenas de *N*-acetilmurámico y *N*-acetilglucosamina del peptidoglicano. En presencia de antibiótico, las transeptidasas hidrolizan el enlace amida del anillo betalactámico y se forma un éster estable entre el compuesto hidrolizado y un grupo hidroxilo de la serina del sitio activo de la enzima. Con ello se inhibe la transeptidación, se desestabiliza la pared celular y finalmente se produce la lisis bacteriana mediada por autolisinas²¹.

La resistencia a betalactámicos está mediada por varios mecanismos:

- 1) **Alteración de la diana (PBP).**
- 2) **Disminución de la permeabilidad.**
- 3) **Mecanismos de eflujo o expulsión del antibiótico.**
- 4) **Inactivación enzimática por betalactamasas**
 - a) **Betalactamasas cromosómicas.**
 - b) **Betalactamasas plasmídicas:**
 - i) **Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)**

La producción de betalactamasas, enzimas capaces de hidrolizar el enlace amida del anillo betalactámico, sería el principal mecanismo de resistencia en gramnegativos.

A principios de los ochenta, Shah y Brun-Buisson fueron los primeros en describir en Europa la existencia de betalactamasas de transmisión plasmídica con capacidad para hidrolizar cefalosporinas de tercera generación, cuando sólo habían transcurrido 2 años desde la introducción de los oximino-betalactámicos en el mercado. Estas enzimas, aisladas inicialmente en cepas bacterianas de la familia *Enterobacteriaceae*, se bautizaron como betalactamasas de espectro extendido y rápidamente se describieron en EEUU y el resto del mundo^{4,22}. La mayoría de ellas han evolucionado como resultado de mutaciones en el centro activo de las betalactamasas plasmídicas clásicas TEM-1, TEM-2 y SHV-1 (TEM en referencia a "Temoniera", nombre de la paciente en cuyo hemocultivo se aisló por primera vez una *E. coli* productora de esta enzima y SHV, iniciales de "sulphydryl variable", nombre que describe las propiedades bioquímicas de la enzima). Estas modificaciones de la cadena aminoacídica que surgen como respuesta a la

| BLEE | β -lactamasa relacionada | País de origen | Especies en las que se detectaron inicialmente |
|-------|--------------------------------|-------------------|--|
| TEM | TEM-1, TEM-2 | Francia (1985) | <i>Enterobacteriaceae</i> |
| SHV | SHV-1/LEN | Alemania(1983) | <i>Enterobacteriaceae</i> |
| CTX-M | KLUA <i>Kluyvera</i> | Varios | <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp. |
| OXA | OXA-10 | Turquía / Francia | <i>P. aeruginosa</i> |
| PER | | Francia(1991) | <i>P. aeruginosa</i> |
| VEB | PER | Vietnam/Tailandia | <i>E. coli</i> |
| TLA | CME-1 | Méjico (1991) | <i>E. coli</i> |
| GES-1 | <i>Y. enterocolitica</i> | Guayana/Sudáfrica | <i>K. pneumoniae</i> <i>P.aeruginosa</i> |
| BES | Amp A | Brasil(1996) | <i>S. marcescens</i> |
| SFO | <i>S. fonticola</i> | Japón(1988) | <i>E. cloacae</i> |
| IBC | <i>Y. enterocolitica</i> | Grecia (1999) | <i>E. cloacae</i> |
| BEL | GES-1 | Bélgica(2004) | <i>P. aeruginosa</i> |

presión ejercida por el amplio uso de las cefalosporinas de tercera generación, les permiten modificar su perfil de sustrato mejorando su capacidad de hidrólisis frente a los betalactámicos²³⁻²⁵. Actualmente se conocen más de trescientos tipos de BLEE, que se clasifican en base a su secuencia aminoacídica, la mayoría de ellas descritas por primera vez en países Europeos (tabla 1).

MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

Las BLEE no siempre incrementan la CMI a niveles caracterizados como resistentes. La falta de sensibilidad y especificidad de los métodos tradicionales de dilución o difusión en disco ha llevado al desarrollo de diferentes métodos basados en la observación de que en las pruebas de microbiología clínica, ceftazidima o cefotaxima en combinación con ácido clavulánico reducen el nivel de resistencia a estas cefalosporinas. Las pruebas utilizadas son las siguientes: la técnica de aproximación de doble disco que utiliza amoxicilina-clavulánico (figura 1), las tiras de E-test de BLEE que utilizan cefepima/cefepima-clavulánico, cefotaxima/cefotaxima-clavulánico y especialmente cefepima/cefepima-clavulánico y por último, la prueba de susceptibilidad automatizada que utiliza ceftazidima o cefotaxima solas o en combinación con ácido clavulánico.

Recientemente el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recomendó iniciar el estudio mediante la prueba de control de crecimiento en un medio que contiene 1 mg/L de 1 de 5 antibióticos betalactámicos de amplio espectro. Un resultado positivo permite sospechar la presencia de BLEE. Esta sospecha inicial debe confirmarse con la determinación de la CMI de ceftazidima o cefotaxima en presencia y en ausencia de ácido clavulánico. Para concluir, el método de aproximación del doble disco y la dilu-

ción en medio líquido para calcular la CMI serían los más rentables y sencillos.

Para identificar las BLEE específicas aisladas en cada cepa se han utilizado los siguientes métodos moleculares de detección: sondas de ADN específicas, PCR con primers de oligonucleótidos, oligotipificación, PCR seguida de análisis de polimorfismo, re-

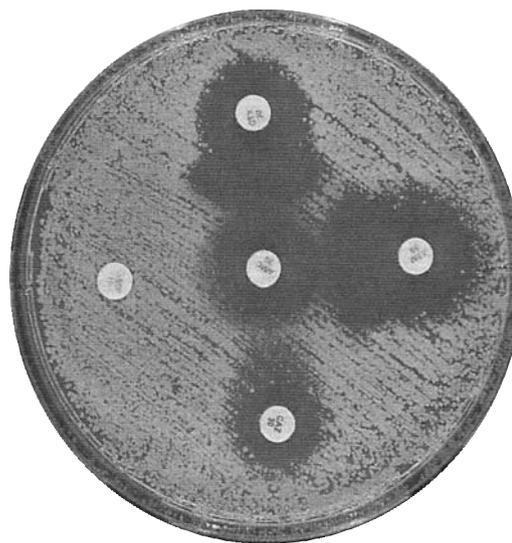


Figura 1 Prueba de doble difusión con discos para la detección de BLEE.

acción en cadena de la ligasa y secuenciación de nucleótidos. Sin embargo, estas determinaciones no forman parte de la práctica clínica habitual en la mayoría de hospitales por carencia de medios.

Dado que los pacientes que presentan infecciones causadas por microorganismos productores de BLEE se encuentran en riesgo de fallo de tratamiento, es muy importante que los laboratorios de microbiología identifiquen las cepas con CMI aumentada a las oximino cefalosporinas. Toda cepa de *Klebsiella* spp o *E. coli* en la que se confirme la producción de BLEE debe informarse como resistente a cefalosporinas, penicilinas y aztreonam, independientemente de los resultados de las pruebas de sensibilidad²⁶.

EPIDEMIOLOGÍA

Hasta finales de los años noventa la mayoría de las BLEE (principalmente de tipo TEM y SHV) se aislaban en cepas de *K. pneumoniae* implicadas en brotes nosocomiales, sobre todo en unidades de cuidados intensivos. Actualmente la atención se centra en el cambio epidemiológico que se está produciendo en cuanto a los tipos de BLEE más prevalentes y su distribución, con mayor presencia en *E. coli* procedente del medio extrahospitalario (principalmente en aislamientos de muestras urinarias) y en relación con BLEE del tipo cefotaximasas (CTX-M)^{13,14,23, 27-29}. Algunos estudios también implican a esta familia de BLEE como causa importante de bacteriemias nosocomiales³⁰.

En humanos, el principal reservorio de *E. coli* con BLEE es el tracto digestivo, y su transmisión se facilita por el contacto a través de las manos, habiéndose descrito transmisión plasmídica y bacteriana de estas enzimas entre personas en contacto estrecho¹⁴. También se ha considerado que ciertos alimentos de origen animal, principalmente en relación con las aves de corral, podrían ser fuente de transmisión de enzimas BLEE al hombre³¹⁻³⁴.

Se desconoce la prevalencia real de las BLEE, pero como ya reflejaba el estudio SENTRY³⁵ su incidencia es creciente, lo que en un principio causó una considerable alarma, con manifestaciones quizá excesivamente catastrofistas por parte de algunos autores en cuanto al futuro de este tipo de resistencia⁴. De hecho, el incremento en el número de aislamientos fue ocurriendo de forma paulatina, describiéndose principalmente en brotes nosocomiales y grupos seleccionados de pacientes. No obstante, las cifras que se manejan en la actualidad no son nada discretas, ascendiendo a más de 170 BLEE de tipo TEM, más de 120 de tipo SHV (detectadas sobre todo en *E. coli* y *Klebsiella* spp.) y en torno a 11 de tipo OXA (descritas principalmente en *P. aeruginosa*) dentro de la clase D. En 1989 se describió una nueva familia de BLEE casi de forma simultánea en 3 países europeos (Francia, Alemania e Italia) y Argentina: la CTX-M, por conferir resistencia preferentemente a cefotaxima. Desde entonces se ha descrito en múltiples especies de Enterobacterias, de manera que hoy día se conocen más de 65 variantes^{21,36}.

Los últimos datos registrados por el European Antimicrobial Surveillance System (EARSS) que se encarga de monitorizar las resistencias antibióticas en patógenos invasivos desde 1998, muestran un aumento en la frecuencia de *E. coli* resistente a cefalos-

porinas de 3ª generación en Europa entre 2006 y 2008³⁷. En la mayor parte de Europa la prevalencia de *E. coli* con BLEE está entre el 1-5%, siendo algo más alta en nuestro país, donde según los últimos datos de 2008, oscila entre el 5-10%. Podemos ver cómo, excepto en Rumanía donde han bajado un escalón de resistencia, la tendencia ha sido al aumento de la frecuencia de cepas resistentes como en Irlanda, Italia y Portugal, donde ya se sitúan en una frecuencia del 10-25%. En Estados Unidos, la situación es distinta y en las conclusiones del estudio MYSTIC se observa una tendencia a la baja en los aislamientos de cepas productoras de BLEE tanto en *E. coli* como en *K. pneumoniae*.²⁹

Por todo ello, vemos que la prevalencia de los diferentes tipos de BLEE y su distribución no es un asunto estático, sino que se ha observado una expansión territorial de las distintas cepas, cambios del ámbito clínico en el que se aíslan, así como surgimiento de cepas que co-expresan varios tipos de BLEE.

En España, en un estudio³⁸ encabezado por Sabaté et al. que analizaba la prevalencia de BLEE en infecciones causadas por *E. coli* y *Klebsiella* spp. en Barcelona durante el período 1994-1996, sólo encontraron un 0,14% y 0,17% de cepas productoras de BLEE respectivamente. Cuatro años más tarde, se publicaron las conclusiones del Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria (GEIH) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) sobre un estudio que se llevó a cabo en el año 2000 en cuarenta hospitales españoles. Se aislaron cepas de *E. coli* productor de BLEE en treinta y tres de los centros participantes (82,5%), con una prevalencia que alcanzaba ya el 2,4%.

En un segundo estudio¹³ prospectivo-multicéntrico realizado por este grupo (GEIH-BLEE Project 2006) seis años después, los aislamientos de *E. coli* con BLEE se dieron en el 100% de los 44 centros participantes y, en este caso la prevalencia de cepas productoras de BLEE fue del 4,04% (0,4-20,3) aislándose sobre todo en muestras urinarias procedentes de la comunidad. Ortega et al. publicaron una prevalencia similar (4%) en un retrospectivo que abarca el período 1991 a 2007, con el matiz del aumento de la prevalencia hasta el 8% en los 2 últimos años del estudio, respecto al 2% del período anterior¹⁹.

Estos datos confirman la expansión creciente de *E. coli* con BLEE también en nuestro país.

Los datos del GEIH-BLEE Project 2002 muestran que más del 50% de *E. coli* productoras de BLEE son de origen comunitario³⁶. Coincidiendo con estos resultados, posteriormente Rodríguez Baño et al. publicaron un estudio³⁹ local realizado en Sevilla, en el que confirma que la prevalencia de las cepas resistentes está adquiriendo mayor importancia en el medio extra hospitalario y que en España prevalecen las enzimas del grupo CTX por encima de TEM y SHV. Esta diferencia es aún más marcada en un estudio posterior, donde de 112 cepas productoras de BLEE aisladas en pacientes con infecciones adquiridas en la comunidad (95% urinarias), el 69% eran del grupo CTX-M (con predominio de las CTX-M-9, seguidas de CTX-M-14), un no desdeñable 32% pertenecían a las del grupo SHV (31 de 36 eran SHV-12) y sólo en el 6% de los casos se identificaron BLEE del grupo TEM¹⁴.

En una publicación en prensa de un estudio multicéntrico⁴⁰ sobre pacientes con bacteriemia por *E. coli* con BLEE de origen co-

munitario/asociado a cuidados sanitarios, realizado en 13 hospitales españoles entre 2004 y 2006, encuentran una frecuencia de resistencia por BLEE del 7% con predominio de enzimas de la familia CTX-M (87%), siendo las más frecuentes CTX-M-14 y 15.

En cuanto a los focos más frecuentemente identificados, en los casos de bacteriemia por *E. coli* con BLEE son el urinario y el biliar, mientras que en muchos de los casos no se consigue identificar un foco infeccioso determinado¹⁹.

FACTORES DE RIESGO DE BACTERIEMIA POR *E. COLI* CON BLEE

En cuanto a los factores de riesgo asociados a la adquisición de infecciones por cepas productoras de BLEE, son múltiples y difieren según los estudios. La enfermedad de base grave se asocia con mayor frecuencia de infección por *E. coli* con BLEE en múltiples estudios. Se podría explicar por el uso empírico de antibióticos de amplio espectro que con frecuencia se emplean más en pacientes gravemente enfermos y que favorecería la selección de cepas resistentes. Ortega et al. apunta como factores predictivos para el aislamiento de *E. coli* con BLEE la adquisición nosocomial, el sondaje urinario y la terapia previa con betalactámicos²⁰.

Un estudio retrospectivo de casos-controles que compara una cohorte de 50 casos de *E. coli* con BLEE con 100 controles de *E. coli* sin BLEE realizado en Hong Kong entre 1996-1998 muestra como factores de riesgo independientes en el análisis univariante la adquisición nosocomial, la enfermedad de base grave y el foco urinario⁴¹.

Los factores de riesgo cambian cuando hablamos de infecciones adquiridas en la comunidad: Rodríguez-Baño et al., identifica como tales el tratamiento antibiótico previo, la hospitalización reciente, cirugía y género masculino⁴². Su grupo obtiene en el análisis multivariante de un comparativo entre pacientes con aislamientos de BLEE CTX-M y SHV adquiridas en la comunidad, resultados de que el primer grupo parece asociarse con edad > 60 años y el segundo con Índice de Charlson >2. En el último estudio multicéntrico realizado en España sobre bacteriemias por *E. coli* con BLEE adquiridas en la comunidad, encuentran como factores de riesgo en el análisis multivariante: la adquisición relacionada con cuidados sanitarios extrahospitalarios, el sondaje urinario y el tratamiento antibiótico previo, particularmente con fluoroquinolonas, lo que supone un dato preocupante dado el gran papel de estos compuestos en el tratamiento de diversas infecciones en régimen ambulatorio^{36,38}.

MORTALIDAD ATRIBUIBLE Y FACTORES PRONÓSTICOS EN LAS BACTERIEMIAS POR *E. COLI* CON BLEE

La repercusión clínica de las infecciones por microorganismos productores de BLEE no está claramente definida, ya que existen pocos estudios prospectivos diseñados específicamente para valorar la evolución clínica en presencia de BLEE que se hayan realizado con un número amplio de pacientes⁴³. Además, desde que se describieron por primera vez en la década de los ochenta se ha

hablado ampliamente de ellas desde el punto de vista microbiológico, mientras que su significación en clínica ha recibido comparativamente menos atención y los datos que encontramos en la literatura son discordantes. Mientras que algunos estudios concluyen que pacientes con infecciones por microorganismos con BLEE tienen peor pronóstico, otros no encuentran asociación significativa entre la presencia de BLEE y una mayor tasa de fracasos terapéuticos o mortalidad. Sin embargo parece existir mayor consenso en que la presencia de BLEE se asocia con más frecuencia a un tratamiento empírico inadecuado, lo que al final se traduce en mayor tasa de fallos de tratamiento y mayor mortalidad^{44,45}. No en vano, el inicio de un tratamiento empírico adecuado es un factor determinante de cara al pronóstico. Pero ni siquiera todos los estudios concuerdan en esta hipótesis⁴¹.

Un estudio italiano muestra que el tratamiento empírico inadecuado y la infección sin foco son factores de riesgo para la mortalidad en pacientes con bacteriemia por cepas con BLEE⁴³.

En el estudio de Ortega et al., los principales factores asociados a mortalidad están en relación con la gravedad clínica inicial (shock al diagnóstico) y el tratamiento empírico inadecuado. Otros factores pronósticos fueron la presencia de neumonía, cirrosis hepática, infección intraabdominal, tumor sólido y neutropenia. El aislamiento de una cepa resistente no fue un factor de riesgo independiente para la mortalidad²⁰.

Esta conclusión parece lógica en base a que el antibiótico específicamente dirigido frente al microorganismo causal "ayuda" al huésped enfermo a luchar contra la infección⁴, por lo que el éxito del tratamiento depende necesariamente de la capacidad del huésped de defenderse. De ahí, que pacientes con enfermedad de base muy grave presenten mayor mortalidad independientemente de la presencia o no de BLEE.

OPCIONES TERAPÉUTICAS EN LAS BACTERIEMIAS POR *E. COLI* CON BLEE

Las opciones de tratamiento en las infecciones causadas por microorganismos gramnegativos productores de BLEE son limitadas, ya que presentan resistencia a cefalosporinas (incluidas tercera y cuarta generación excepto cefamicinas), penicilinas de amplio espectro y aztreonam, y además con frecuencia, los plásmidos que codifican esta resistencia portan genes de resistencia a otros antibióticos, y el fenómeno de resistencia cruzada es muy frecuente^{46,47}.

Hasta el momento solo los carbapenems han demostrado de forma consistente su eficacia frente a infecciones por cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, con dudas respecto a la utilización de cefamicinas como la cefoxitina y las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas como piperacilina-tazobactam.

A las escasas opciones terapéuticas⁴⁸ se suma la obtención de resultados discordantes en cuanto a respuesta clínica en los diferentes estudios. De una parte hay estudios que muestran fracaso terapéutico aún cuando la infección parece ser susceptible al antibiótico utilizado. Mientras, otros publican datos de buena evolución clínica con el uso de cefalosporinas en el tratamiento

de infecciones, especialmente de foco urinario, causadas por bacterias productoras de BLEE que por definición son resistentes a estos antibióticos.

La tasa de fracasos terapéuticos empleando antibióticos activos *in vitro* en el contexto de estas infecciones, puede superar el 50%. Este comportamiento se ha puesto en relación con el efecto inóculo, por el cual las CMI de los antimicrobianos pueden aumentar de 10 a 100 veces en función de la carga bacteriana, dando lugar a fenómenos de resistencia *in vivo* a pesar de que los resultados *in vitro* indiquen que es un aislamiento sensible o de resistencia intermedia. Este fenómeno también se ha observado con las cefalosporinas de cuarta generación, a pesar de ser estos compuestos estructuralmente más estables frente a la hidrólisis por betalactamasas. Sin embargo recientemente otros autores argumentan que el efecto inóculo podría ser más bien un artefacto *in vitro* que carecería de importancia clínica⁴⁹.

Los datos en cuanto al papel de las cefalosporinas de tercera generación son objeto de desacuerdo (tabla 2). Las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima, cefpiroma) mantienen buena actividad frente a ciertas cepas productoras de BLEE, sobre todo del tipo SHV. De hecho, según algunas comunicaciones, entre el 95% y el 100% de los aislamientos con BLEE son sensibles *in vitro*.

La explicación microbiológica de esta discordancia estriba en la diferente capacidad hidrolítica sobre los oximino betalactámicos según el tipo BLEE estudiada⁴¹. Si tenemos en cuenta todos los tipos de BLEE descritos y que su clasificación molecular sistemática no tiene cabida en la práctica clínica habitual, parece lógica la recomendación del CLSI de investigar la producción de BLEE en cualquier aislamiento de *Klebsiella* spp o *E. coli* cuyas CMI de aztreonam, ceftazidima, ceftriaxona o cefotaxima sea igual o superior a 2 mg/L, informándola como resistente a todos los betalactámicos, de manera que el clínico pueda tomar la decisión de iniciar tratamiento con carbapenemes cuando se trate de una infección grave o, si se comprueba la sensibilidad, con un aminoglucósido o fluorquinolona en infecciones leves o sin diseminación hematológica²². Algunos autores defienden esta estrategia argumentando que en caso de no ser una situación de brote epidémico o de riesgo vital es necesario preservar el valor terapéutico de los carbapenemes, por lo que, basándose en los patrones de sensibilidad de cada institución sería preferible la utilización de piperacilina-tazobactam, una fluoroquinolona o un aminoglucósido⁵⁰.

En cuanto a los éxitos terapéuticos en pacientes con infección por BLEE que han recibido antibióticos resistentes *in vitro*, nos encontraríamos en el caso contrario, y la explicación sería que la respuesta al tratamiento puede verse afectada por la localización de la infección. Así, la terapia empírica para las infecciones urinarias por microorganismos resistentes con BLEE, puede mostrar buenos resultados en relación con las altas concentraciones de antibiótico alcanzadas en orina²².

Analizando los grupos terapéuticos que se contemplan como opción en estos casos encontramos:

Cefamicinas: aunque por definición no son hidrolizadas por el mecanismo de las BLEE, su utilidad es limitada debido al fre-

cuento desarrollo de resistencia por pérdida de expresión de las porinas a través de las cuales entra el antibiótico.

Carbapenemes: hoy por hoy y hasta no disponer de mayor experiencia clínica procedente de ensayos aleatorizados, el tratamiento de elección de las infecciones graves por bacterias gramnegativas productoras de BLEE son los carbapenemes, siendo imipenem el más estudiado hasta ahora^{6, 43}. Sus moléculas son altamente estables a la hidrólisis por betalactamasas y parecen ser los únicos capaces de mantener la actividad bactericida durante veinticuatro horas frente a altos inóculos de cepas productoras de BLEE en ensayos *in vitro*. Wong-Beringer⁵¹ en un estudio realizado sobre 80 pacientes con bacteriemia por *E. coli* y *K. pneumoniae* con BLEE que se trataron con imipenem sólo o en combinación, comunicó que todos menos 3 tuvieron una respuesta favorable o alcanzaron la curación. En otro estudio retrospectivo sobre pacientes con bacteriemia de origen nosocomial por *E. coli* o *K. pneumoniae* con BLEE, los pacientes tratados con imipenem consiguieron una mayor supervivencia⁴². Ertapenem, a pesar de no tener actividad frente a *P. aeruginosa*, presenta en estudios preliminares una eficacia clínica semejante a imipenem frente a *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, a lo que se une su cómoda administración (una vez al día por vía intramuscular o intravenosa). Por todo lo anterior sería una buena opción para el tratamiento de los pacientes con infecciones comunitarias con sospecha de ser causadas por estas bacterias productoras de BLEE y en las que no existen factores de riesgo para infección por *P. aeruginosa*^{8, 52, 53}.

No obstante debemos ser cautelosos con el empleo de los carbapenemes, ya que se han descrito fenómenos de resistencia por carbapenemasas mediadas por plásmidos, metalo-betalactamasas y proteasas de espectro extendido y aunque de momento son infrecuentes, su evolución es impredecible. También es posible la resistencia debida a alteraciones en las porinas y su uso indiscriminado puede inducir la aparición de cepas de bacilos gramnegativos no fermentadores multirresistentes⁵⁴⁻⁵⁶.

Piperacilina-tazobactam: no hay datos de estudios prospectivos que hayan examinado su eficacia. En un estudio que examinó la actividad *in vitro* de antibióticos de amplio espectro frente a aislados de *E. coli* con BLEE, piperacilina-tazobactam fue el segundo antibiótico con mayor actividad después de imipenem, consiguiendo inhibición en el 84,4% de los aislados⁵⁷. No obstante por ejemplo, en el estudio SENTRY, el 80% de *Enterobacter* spp. resistentes a ceftazidima eran resistentes a piperacilina/tazobactam. Una sobreproducción de β -lactamasa *in vivo* puede superar la capacidad inactivadora del inhibidor. Además su sensibilidad al efecto inóculo, si bien menor que la de las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, es mayor que en el caso de los carbapenemes⁵⁸. De modo que, los datos de los que se dispone actualmente no permiten hacer recomendaciones claras sobre el uso de este antibiótico y se necesitarían estudios prospectivos más amplios.

Amoxicilina-clavulánico: podría ser una opción para el tratamiento de las infecciones urinarias por *E. coli* productora de BLEE siempre y cuando se trate de un aislado sensible, ya que no es infrecuente la resistencia a esta combinación por producción

simultánea de otras betalactamasas, alteraciones de permeabilidad o, en menor medida, la hiperproducción de la propia BLEE⁵⁹.

Aminoglucósidos: muestran actividad variable frente a las enterobacterias productoras de BLEE, pero en el caso de *E. coli* se ha visto que la tasa de resistencia a aminoglucósidos es de dos a tres veces mayor que cuando la cepa no produce BLEE. Amikacina parece ser el que muestra una menor tasa de resistencias, pero los datos existentes sugieren que los resultados dependen de que la CMI de la cepa en cuestión frente al aminoglucósido sea baja⁴¹.

Fluoroquinolonas: su uso tiene gran valor en el tratamiento de infecciones del tracto urinario por las grandes concentraciones que pueden alcanzar en orina, sin embargo, hay estudios que muestran una relación estadísticamente significativa entre el uso previo de fluoroquinolonas y la resistencia por BLEE, lo cual limita las opciones de tratamiento oral de infecciones urinarias en el medio extrahospitalario²³. La resistencia a fluoroquinolonas en *E. coli* con BLEE en nuestro país se encuentra en torno al 60%. No obstante mantienen su indicación en los casos sensibles. Los factores identificados como de riesgo para la resistencia a fluoroquinolonas en *E. coli* con BLEE incluyen uso previo de fluoroquinolonas y aminoglucósidos e ingreso en unidades de cuidados medios⁶⁰.

Cefepima: la literatura sugiere que la producción de BLEE podría tener su efecto más marcado sobre ceftazidima, por lo que en algunos casos se ha empleado cefepima, una cefalosporina de cuarta generación con mayor estabilidad frente a bacterias productoras de BLEE, respaldada por estudios de sensibilidad *in vitro*. No obstante los estudios que respaldan esta idea son escasos⁴¹. Se está investigando mediante estudios de letalidad la utilidad de otras combinaciones, como la de cefepima o ceftipoma con sulbactam con la que algunos autores han encontrado un efecto bactericida mantenido a las 24 horas o la de ceftazidima con sulbactam con la que podría existir un efecto inhibidor post- β -lactamasa en cepas productoras de BLEE de mayor duración que el efecto postantibiótico. De cualquier modo, toda esta información debe ser tomada con precaución y no tiene una traducción clínica práctica por el momento^{61, 62}.

Colistina: es activa frente a microorganismos productores de BLEE, no obstante son pocos los estudios publicados respecto a su uso en infecciones por *E. coli*. Podría considerarse como opción en caso de resistencia a carbapenemes^{63, 64}.

Tigeciclina: se ha descrito su papel en casos de infecciones intraabdominales y de tejidos blandos, con el inconveniente de que no aporta cobertura para *P. aeruginosa* y de que alcanza bajas concentraciones en orina, por lo que no estaría indicado su uso en infecciones del tracto urinario⁸.

Fosfomicina: al contrario de lo comentado para tigeciclina, ha mostrado buenos resultados *in vitro* e *in vivo* frente a infecciones del tracto urinario provocadas por *E. coli* con BLEE^{56, 65}.

ESTRATEGIAS PARA EVITAR LA DISEMINACIÓN DE BLEE

El patrón epidemiológico observado en los brotes de BLEE es compatible con diseminación clonal o presión selectiva de los antibióticos en la diseminación por medio de plásmidos entre distintos clones, siendo posible la coincidencia de ambos mecanismos. Evitar la diseminación de BLEE especialmente en el caso de *E. coli* supone un gran reto, ya que el escenario sobre el que actuar va más allá del ámbito hospitalario y se sitúa en la comunidad, donde existen gran número de "portadores sanos" y donde los reservorios y mecanismos de transmisión son más difíciles de identificar y controlar. La primera medida para controlar la diseminación de *E. coli* con BLEE es pensar en su existencia y educar a los sanitarios en cuanto a la necesidad de racionalizar el uso de cefalosporinas, especialmente de tercera generación, y de fluoroquinolonas. En cada área de salud, el laboratorio de Microbiología de referencia, los hospitales asociados, centros de Atención Primaria e instituciones sanitarias que dependen de él, deberían trabajar conjuntamente para definir la epidemiología de las cepas resistentes en la zona, lo que permitiría adoptar medidas de prevención concretas. La transmisión al hombre de *E. coli* con BLEE a través de la cadena alimentaria debería estudiarse incluso a nivel internacional, para interrumpir la diseminación por una vía que puede tener un gran alcance. La admisión hospitalaria de pacientes procedentes de otras instituciones sanitarias debería seguirse de actuaciones protocolizadas dirigidas al despistaje de infección o colonización por *E. coli* con BLEE y a generar una alerta en la historia clínica del paciente desde su ingreso en el hospital, que permitiese instaurar el tratamiento adecuado lo antes posible⁶⁶. En cuanto a las medidas de aislamiento en estos casos no hay consenso, ya que con frecuencia el mecanismo de resistencia es la producción de enzimas de tipo CTX-M, que se presentan de forma policlonal y que difícilmente se transmiten paciente a paciente, por lo que aquí de nuevo lo importante sería implementar el uso correcto de antibióticos más que las estrategias de aislamiento. No obstante, lo correcto sería aplicar en conjunto ambas medidas adaptándolas a la epidemiología de cada centro⁶⁷.

En caso de brote, la restricción antibiótica parece ser la estrategia principal tanto en epidemias clonales como policlonales, mientras que la rotación periódica de antimicrobianos ha tenido resultados de adhesión y de eficacia dispares⁶⁸.

CONCLUSIONES

Las bacteriemias por *E. coli* con BLEE constituyen una entidad clínica grave que, al igual que otras infecciones causadas por microorganismos multirresistentes, supone un reto a la hora de instaurar un tratamiento antibiótico correcto que no favorezca el desarrollo de resistencias por otros mecanismos.

La resistencia mediada por BLEE ha incrementado su presencia en el medio extrahospitalario, y con frecuencia se aíslan cepas resistentes colonizando o infectando a individuos procedentes de la comunidad o atendidos en instituciones sanitarias y centros de cuidados crónicos. Esta característica epidemiológica amplía el campo de actuación para evitar la diseminación de BLEE y probablemente se erija como nuevo factor predictivo de infección por

E. coli con BLEE junto con el ya conocido uso previo de antibióticos.

La asociación entre la presencia de BLEE y una mayor mortalidad en las bacteriemias por *E. coli* parece no estar clara y los peores resultados de evolución se han relacionado más con la enfermedad de base grave o el fracaso terapéutico debido a la instauración de un tratamiento inadecuado, condiciones que con frecuencia confluyen en estos pacientes.

Las opciones de tratamiento son limitadas, siendo para la mayoría de los autores los carbapenemes los antibióticos de elección.

Se requiere un estudio en profundidad de los patrones clínico-epidemiológicos en las bacteriemias por *E. coli* con BLEE que permita estructurar protocolos tanto para prevenir la diseminación de la resistencia por BLEE como para mejorar las estrategias de diagnóstico y tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Rubio C, Gil J, Gómez-Lus R. Significado clínico de las resistencias bacterianas. En (Gómez J, Gobernado M. Eds). Enfoque clínico de los Grandes Síndromes Infecciosos. Madrid Ergón Ed. 2ª ed 2006:27-36.
- Bush K. Characterization of betalactamasas. Antimicrob Agents Chemother 1989;33:259-63.
- Campos J, Baquero F. Resistencia a antibióticos: ¿qué hacer ahora? Med Clin 2002;119:656-8.
- Alanis AJ. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? Arch Med Res 2005;36:697-705.
- Jacoby GA. Broad-Spectrum transmissible beta-lactamases. N Engl J Med 1988;319:723-4.
- Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum B-lactamases: a Clinical Update. J Clin Microbiol Rev 2005;18:657-86.
- Gobernado M. Betalactamasas de espectro extendido en aumento. Rev Esp Quimioterap 2005;18:115-7.
- Rodríguez-Baño J, Pascual A. Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases. Expert Rev Anti Infect Ther 2008; 6: 671-83.
- Peralta G, Sánchez MB, Garrido JC, De Benito I, Cano ME, Martínez-Martínez L et al. Impact of antibiotic resistance and adequate empirical antibiotic treatment in the prognosis of patients with *Escherichia coli* bacteraemia. J Antimicrob Chemother 2007; 60: 855-63.
- Melzer M, Petersen I. Mortality following bacteraemic infection caused by extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E. coli* compared to non-ESBL producing *E. coli*. J Infect 2007;55:254-9.
- Schwaber M, Navon-Venezia S, Kaye KS, Ben-Ami R, Schwartz D, Carmeli Y. Clinical and economic impact of bacteremia with extended-spectrum-beta-lactamase producing Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:1257-62.
- Spellberg B, Powers JH, Brass EP, Miller LG, Edwards JE. Trends in antimicrobial drug development: implications for the future. Clin Infect Dis 2004;38:1279-86.
- Martínez-Martínez L, Calvo J. The growing problem of antibiotic resistance in clinically relevant Gram-negative bacteria: current situation. Enferm Infecc Microbiol Clin 2010;Suppl 2:25-31.
- Ángel Díaz M, Ramón Hernández J, Martínez Martínez L, Rodríguez-Baño J, Pascual A. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Spanish hospitals: 2nd multicenter study (GEIH-BLEE project, 2006). Enferm Infecc Microbiol Clin 2009;27:503-10.
- Rodríguez-Baño J, Alcalá J, Cisneros JM, Grill F, Oliver A, Horcajada JP. *Escherichia coli* producing SHV-type extended-spectrum beta-lactamase is a significant cause of community-acquired infection. J Antimicrob Chemother 2009;63:781-4.
- Pitout JDD, Gregson DB, Campbell L, Laupland KB. Molecular Characteristics of Extended-Spectrum-B-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates Causing Bacteremia in the Calgary Health Region from 2000 to 2007: Emergence of Clone ST131 as a cause of Community-Acquired Infections. Antimicrob Agents Chemother 2009;53:2846-51.
- Valverde A, Coque TM, Sánchez-Moreno MP, Rollán A, Baquero F, Cantón R. Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae during non-outbreak situations in Spain. J Clin Microbiol 2004;42:4769-75.
- Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP et al. Health care-associated blood-stream infections in adults: a reason to change the accepted definitions of community-acquired bacteremia. Ann Intern Med 2002;137:791-7.
- Wisplinghoff H, Bischoff T, Talent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide study. Clin Infect Dis 2004;39:309-17.
- Ortega M, Marco F, Soriano A, Almela M, Martínez A, Muñoz A. Analysis of 4,758 *Escherichia coli* bacteraemia episodes: predictive factors for isolation of an antibiotic-resistant strain and their impact on the outcome. J Antimicrob Chemother 2009;63:568-74.
- Cantón R, Valdezate S, Mir N. Resistencia a los antimicrobianos. En (García-Sánchez J.E, López R, Prieto J., Eds.). Antimicrobianos en medicina. Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science Ed. 1999: 41-7.
- Cantón R. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect 2008;14 (Suppl 1):S144-S153.
- Alpuche Aranda C. Infecciones nosocomiales por bacterias resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos. Enferm Infecc Microbiol Clin 2002;22: 192-9.
- Muñoz Bellido J.L. Betalactamasas de espectro ampliado: ¿son hoy un serio problema en España? Rev Esp Quimioterap 2004;17:314-6.
- Bush K. Alarming β -lactamase-mediated resistance in multi-drug-resistant Enterobacteriaceae. Curr Opin Microbiol 2010;13:558-64.
- Giamarellou H. Multidrug resistance in Gram-negative Bacteria that Produce Extended-Spectrum Beta -Lactamases (ESBLs). Clin Microbiol Infect 2005;11:1-16.
- Diestra K, Coque TM, Miró E, Oteo J, Nicolau CJ, Campos J, et al; Red Española de Investigación en Patología Infecciosa. Características de las bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en España. Rev Esp Quimioter 2011;24(2):57-66.

- rización y epidemiología molecular de betalactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en 11 hospitales españoles (2004). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26:404-10.
28. Livermore DM, Hawkey PM. CTX-M: changing the face of ESBLs in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:451-4.
 29. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:165-74.
 30. Tumbarello M, Sali M, Treccarichi EM, Leone F, Rossi M, Fiori F. Bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors for inadequate initial antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3244-52.
 31. Goossens H, Grabein B. Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended-spectrum beta-lactamase and AmpC-producing Enterobacteriaceae from the MYSTIC Program in Europe and the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;5:257-64.
 32. Warren RE, Ensor VM, O'Neill P, Butler V, Taylor J, Nye K, et al. Imported chicken meat as a potential source of quinolone-resistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:504-8.
 33. Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Catry B, et al. Diversity of extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:1238-43.
 34. Lavilla S, González-López JJ, Miró E, Domínguez A, Llagostera M, Bartolomé RM, et al. Dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria: the food-borne outbreak lesson. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:1244-51.
 35. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the American and the Western Pacific Region. *Clin Infect Dis* 2001;32(Suppl 2):S94-S103.
 36. Disponible en <http://www.lahey.org/studies>. Datos recopilados el 18/08/2009.
 37. EARSS data. Disponible en <http://www.earss.rivm.nl>. Datos recopilados el 13/10/2009.
 38. Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de beta-lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003;21:77-82.
 39. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, Pascual A. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in non hospitalized patients. *J Clin Microbiol* 2004;42:1089-94.
 40. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, Hernández JR, Ruiz M, Peña C. Community-onset bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis* 2010;50:40-8.
 41. Ho PL, Chan WM, Tsang KW, Wong SS, Young K. Bacteremia caused by *Escherichia coli* producing Extended-spectrum beta-lactamases: a case control study of risk factors and outcomes. *Scand J Infect Dis* 2002;34:567-73.
 42. Rodríguez-Baño J, Alcalá JC, Cisneros JM, Grill F, Oliver A, Horcajada JP et al. Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med* 2008;168:1897-902.
 43. Ramphal R, Ambrose PG. Extended-Spectrum beta-lactamases and clinical outcomes: current data. *Clin Infect Dis* 2006;42(Suppl 4):S164-S172.
 44. Du B, Long Y, Liu H, Chen D, Liu D, Xu Y. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome. *Intensive Care Med* 2002;28:1718-23.
 45. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Treccarichi EM, Posteraro B, Fiori R, 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;51:1987-94.
 46. Oteo J, Pérez-Vázquez M, Campos J. Extended-spectrum [beta]-lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Curr Opin Infect Dis* 2010;23:320-6.
 47. Oteo J. Antibiotic resistance in 1962 invasive isolates of *Escherichia coli* in 27 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2001). *J Antimicrob Chemother* 2002;50:945-52.
 48. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Crit Care* 2010;14:224.
 49. Craig WA, Bhavnani SM, Ambrose PG. The inoculum effect: fact or artifact?. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004;50:229-30.
 50. Vila J, Marco F. Interpretive reading of the non-fermenting gram-negative bacilli antibiogram. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010;28:726-36.
 51. Wong-Beringer A. Molecular correlation for the treatment outcomes in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to ceftazidime. *Clin Infect Dis* 2002;34:135-46.
 52. Lye DC, Wijaya L, Chang J, Teng CP, Leo YS. Ertapenem for treatment of extended-spectrum beta-lactamase-producing and multi-drug-resistant gram-negative bacteraemia. *Ann Acad Med Singapore* 2008;37:831-4.
 53. Elliott E, Brink AJ, VanGreune J, Els Z, Woodford N, Turton J, et al. In vivo development of ertapenem resistance in patient with pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* with an extended-spectrum beta-lactamase. *Clin Infect Dis* 2006;42:95-8.
 54. Corbella X, Montero A, Pujol M, Dominguez MA, Ayats J, Argerich MJ et al. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multi-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* 2000;38:4086-95.
 55. Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *Int J Med Microbiol* 2010;300:371-9.
 56. Thomson KS. Extended-spectrum-beta-lactamase, AmpC, and Carbapenemase issues. *J Clin Microbiol* 2010;48:1019-25.

57. Roland RK, Mendes RE, Silbert S, Bolsoni AP, Sacer HS. In vitro antimicrobial activity of piperacillin/tazobactam in comparison with other broad-spectrum β -lactams. *Braz J Infect Dis* 2000;4:226-35.
58. Thomson KS, Moland ES. Cefepime, piperacillin-tazobactam and the inoculum effect in tests with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:3548-54.
59. Oliver A, Cantón R. Enterobacterias productoras de beta-lactamasas plasmídicas de espectro extendido. Disponible en: http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/Blees.htm.
60. Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH, Fishman N. Epidemiological investigation of fluoroquinolone-resistance in infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 2001;33:1288-94.
61. Sánchez Artola B. Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). *Revista Electrónica de Medicina Intensiva* 2004;4:Art C6
62. Lavigne JP, Bonnet R, Michaux-Charachon S, Jourdan J, Caillon J, Sotto A. Post-antibiotic and post-beta-lactamase inhibitor effects of ceftazidime plus sulbactam on extended-spectrum beta-lactamase-producing Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:616-9.
63. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2006;6:589-601.
64. De Cueto M, Hernández JR, López-cerero L, Morillo C, Pascual A. Actividad de fosfomicina sobre cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de beta-lactamasas de espectro extendido. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006;24:613-6.
65. Pullucku H, Tasbakan M, Sipahi OR, Yamazhan T, Aydemir S, Ulusoy S. Fosfomicyn in the treatment of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* related urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 2007;29:62-5.
66. Warren RE, Harvey G, Carr R, Ward D, Doroshenko A. Control of infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing organisms in hospitals and the community. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(Suppl 1):124-33.
67. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, Perea EJ, Pérez-Cano R et al. Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* as a cause of nosocomial infection or colonization: implications for control. *Clin Infect Dis* 2006;42:37-45.
68. Fridkin SK. Routine cycling of antimicrobial agents as an infection control measure. *Clin Infect Dis* 2003;36:1438-44.