

## ***K. pneumoniae* y betalactamasas. Un problema creciente**

### ***K. pneumoniae* and beta-lactamases. A rising issue**

Lina María Echeverri Toro <sup>1</sup>, Santiago León Atehortúa Muñoz <sup>1</sup>, Jaime Robledo Restrepo<sup>2</sup>

#### **RESUMEN**

El incremento en la resistencia bacteriana es un fenómeno que va en aumento en todo el mundo; *Klebsiella pneumoniae* es uno de los patógenos más importantes como causa de infección nosocomial y presenta una alta resistencia a los antibióticos betalactámicos, debido a varios mecanismos. Uno de los más importantes es la producción de enzimas betalactamasas. Los antibióticos β-lactámicos son los antibióticos más prescritos en todo el mundo; su consumo corresponde aproximadamente al 50% del consumo global, lo que denota la relevancia que tiene el estudio de la resistencia a betalactámicos en *Klebsiella pneumoniae*. Esta revisión destaca la importancia de este patógeno como patógeno nosocomial en la ciudad, en el país y compara esta situación con otras áreas del mundo. Presenta una descripción de las betalactamasas, su clasificación y sus sustratos. Además, se presenta una descripción de los métodos para su detección por el laboratorio clínico.

**Palabras clave:** *Klebsiella pneumoniae*, betalactamasas

#### **ABSTRACT**

The increase in bacterial resistance is a rising phenomenon around the world, *Klebsiella pneumoniae* is one of the most important pathogens causing nosocomial infection being also associated to high resistance to beta-lactam antibiotics, mostly due to the presence of enzymes known as beta-lactamases. β-lactam antibiotics are the most prescribed antibiotics throughout the world, its use corresponding to approximately 50% of global use. The following review highlights the importance of the study and detection of B-lactamases in *K. pneumoniae* strains. The following paper describes the importance of *K. pneumoniae* as a nosocomial pathogen in the country and in the city and compares the situation to other areas of the world. A description of B-lactamases, their classification and target substrates is provided. In addition, the methods for detection of these enzymes by the clinical laboratory is also provided.

**Key words:** *Klebsiella pneumoniae*, beta-Lactamases

#### **CARACTERÍSTICAS DEL MICROORGANISMO**

*Klebsiella pneumoniae* es una bacteria Gram negativa de la familia *Enterobacteriaceae*, que desempeña un importante papel como causa de enfermedades infecciosas oportunistas. Es la especie de mayor relevancia clínica y más estudiada dentro del género *Klebsiella* ya que está implicada principalmente en infecciones

nosocomiales como infección del tracto urinario, neumonías, sepsis, infecciones de tejidos blandos e infecciones de heridas quirúrgicas. Son especialmente susceptibles los pacientes ingresados en unidades de Cuidados intensivos y Neonatos<sup>1-5,12,15</sup>.

La trascendencia de este microorganismo puede confirmarse con los datos reportados por el grupo Germen, de Antioquia, a partir

<sup>1</sup> Médico. Estudiante de Maestría Ciencias Médicas - Universidad Pontificia Bolivariana

<sup>2</sup> Médico Microbiólogo, Jefe de laboratorio de Micobacterias de la Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Profesor Universidad Pontificia Bolivariana

Correspondencia: Lina María Echeverri Toro. Correo electrónico: linamariae@hotmail.com

Fecha de recibido: 18 de junio de 2009

Fecha de aprobado: 28 de septiembre de 2009

de 14 hospitales de Medellín y su Área Metropolitana durante el año 2007-2008, que señalan a *Klebsiella pneumoniae* como el tercer microorganismo aislado de todos los servicios hospitalarios, lo que corresponde a un porcentaje del 8% (Figura 1)<sup>6</sup>. En los datos reportados en un estudio realizado en Bogotá, durante los años 2001, 2002 y 2003 en 14 hospitales de tercer nivel de esa ciudad que hacen parte del grupo Grebo, se encontró que *K. pneumoniae* era el cuarto patógeno en prevalencia con un porcentaje del 5.7%, como causante de infección nosocomial, presentándose más frecuentemente en salas de Pediatría y UCI, en pacientes que estaban recibiendo antibióticos de amplio espectro. Se aisló principalmente de infecciones de tracto respiratorio, tracto genitourinario y bacteriemias<sup>4</sup>.

Se ha encontrado en múltiples estudios que *K. pneumoniae* es un microorganismo que está muy adaptado al ambiente hospitalario y que sobrevive mucho tiempo en las manos del personal de salud, lo que explica también su importancia y hace más factible y fácil su transmisión entre personas. Incluso, hasta la transmisión entre diferentes sitios de un mismo hospital, o entre ciudades y países<sup>11, 14</sup>.

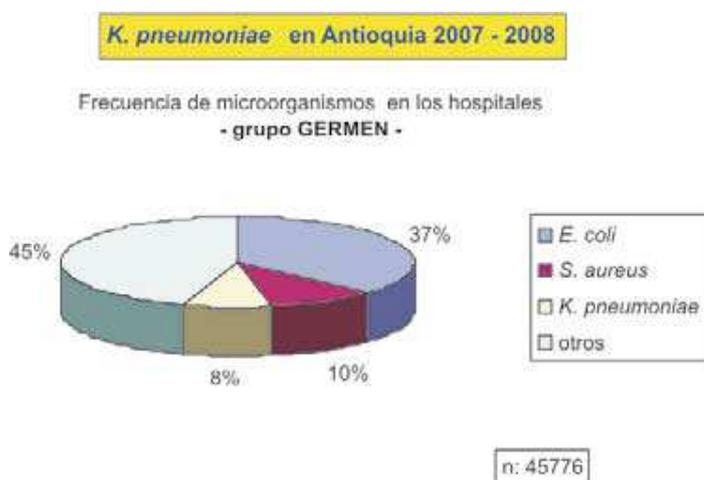
Esa permanencia de *K. pneumoniae* en las manos y en el ambiente hospitalario se debe a diferentes propiedades y características que posee esta bacteria, entre los que se encuentran su capacidad para resistir a la desecación en el medio y sobrevivir en la piel debido a su cápsula hidrofílica, la presencia de adhesinas y fimbrias que le permite adherirse a las superficies. En algunos aislamientos se ha demostrado la presencia de plásmidos relacionados con la expresión de proteínas que median la fijación a superficies plásticas. El antígeno O del lipopolisacárido le da resistencia a la fagocitosis y le ayuda a evadir la respuesta inmune del hospedero y la actividad de endotoxina está relacionada con la multiplicación en los tejidos del hospedero<sup>8, 20</sup>.

### MECANISMOS DE RESISTENCIA

La resistencia múltiple a antibióticos, en bacterias Gram negativas, es producto de una combinación de mecanismos de resistencia, algunos de ellos inherentes a la especie y otros adquiridos mediante elementos genéticos móviles como plásmidos y transposones.

Entre estos múltiples mecanismos de resistencia, se destacan en bacterias Gram negativas como *K. pneumoniae*, la combinación de la presencia de enzimas de la clase  $\beta$ -lactamasa con la pérdida o modificación de porinas, lo que lleva a la disminución y permeabilidad de la membrana externa bacteriana<sup>7, 35</sup>.

Las betalactamasas son un grupo muy heterogéneo de enzimas de resistencia. En la actualidad hay descritas más de 700. Estructuralmente, son proteínas compuestas de hojas  $\beta$  plegadas y  $\alpha$  hélices. Estas enzimas se encuentran en el espacio periplásmico de las bacterias Gram negativas<sup>13</sup>.



**Figura 1.** Gráfica adaptada según datos del grupo Germen 2007-2008. [www.grupogermen.org](http://www.grupogermen.org)

El mecanismo de acción de estas enzimas consiste en hidrolizar el anillo betalactámico de los antibióticos, uniéndose a éste mediante un enlace no covalente y adicionando una molécula de agua. Al hidrolizar el anillo, el antibiótico betalactámico pierde sus propiedades y es incapaz de unirse a su sitio blanco, las PBPs (proteínas unidoras de penicilina). Estas proteínas son esenciales por su actividad de peptidasas en el ensamblaje final del peptidoglicano, componente principal de la pared celular<sup>13,14, 25</sup>.

### CLASIFICACIÓN

Las betalactamasas han recibido múltiples clasificaciones, debido a que son muy numerosas. Pueden ser separadas según su estructura, su función, el sustrato al que se unen o las sustancias que las inhiben, según sus parámetros cinéticos y su expresión, es decir, si está codificada en el cromosoma o si está codificada en plásmidos.

En la actualidad las dos clasificaciones más vigentes son la de Ambler y la de Bush-Jacoby-Medeiros<sup>13, 15</sup>.

La clasificación de Ambler se formuló en el año 1980 y se basa en la estructura molecular y secuencia de aminoácidos de las enzimas. Hace una clasificación con letras de la A a la D. La A, C y D, corresponden al grupo de betalactamasas que tiene serina en su estructura y son llamadas serina betalactamasas, hidrolizan penicilinas, oxacilina y cefalosporinas. Las del grupo B son conocidas como metalobetalactamasas y se diferencian de los otros tres grupos en que tienen como cofactor un ion de Zinc, necesario para actuar, además que actúa sobre penicilinas, cefalosporinas y carbapenems, pero no sobre monobactámicos (Figura 2)<sup>17,30</sup>.

La clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros nació en 1995 y se basa en las similitudes de la función de las enzimas. Las clasifica en grupos del 1 al 4, a su vez el grupo 2 lo subclasifica

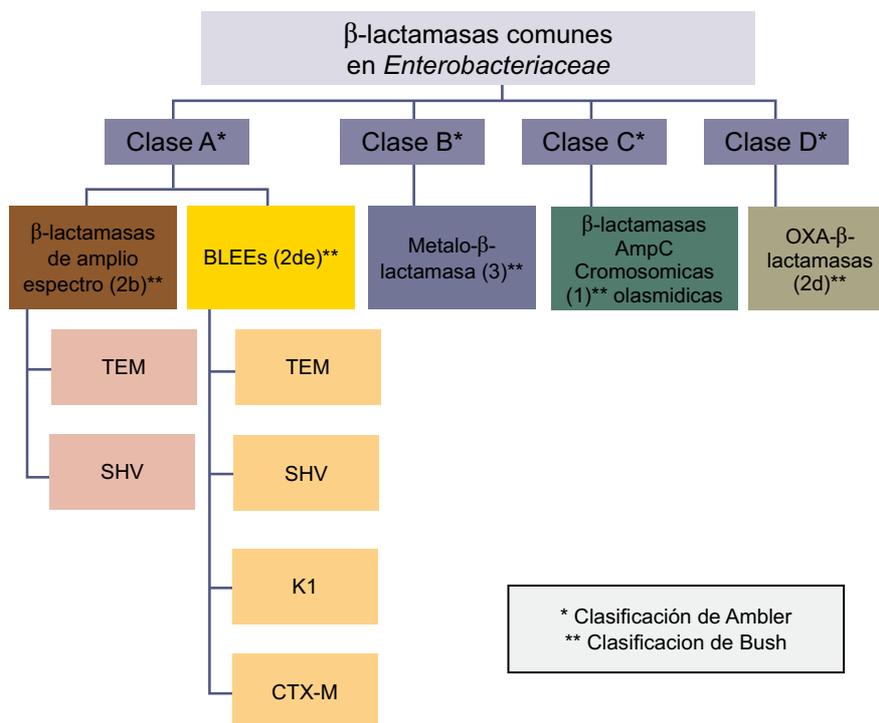


Figura 2. Esquema de clasificación de β-lactamasas

con letras de la A a la F. De este grupo, la mayoría es inhibida por el ácido clavulánico, donde el grupo 2be es el que corresponde a las betalactamasas de amplio espectro (BLEEs) y son las encontradas más frecuentemente en la actualidad<sup>17, 25</sup>.

### EVOLUCIÓN

Las betalactamasas se conocen desde hace mucho tiempo, puesto que hay reportes desde los años 60 (1965). Estas enzimas han tenido un proceso evolutivo interesante.

A comienzos de los años 80 aparecieron en el mundo aislamientos de bacterias resistentes a los antibióticos betalactámicos, penicilinas y cefalosporinas de bajo espectro, debido a la acción de las betalactamasas. Estos reportes iniciales fueron relacionados con *E.coli* y *K. pneumoniae*<sup>15, 16</sup>.

Por esta razón la industria farmacéutica desarrolló nuevos antibióticos de mayor espectro conocidos como oximino betalactámicos, como cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona y el monobactámico aztreonam, que no eran hidrolizados por las betalactamasas iniciales. Dos años después, en 1983, se reportó la primera betalactamasa de espectro extendido mediada por plásmidos con actividad contra estos últimos antibióticos<sup>15, 24</sup>.

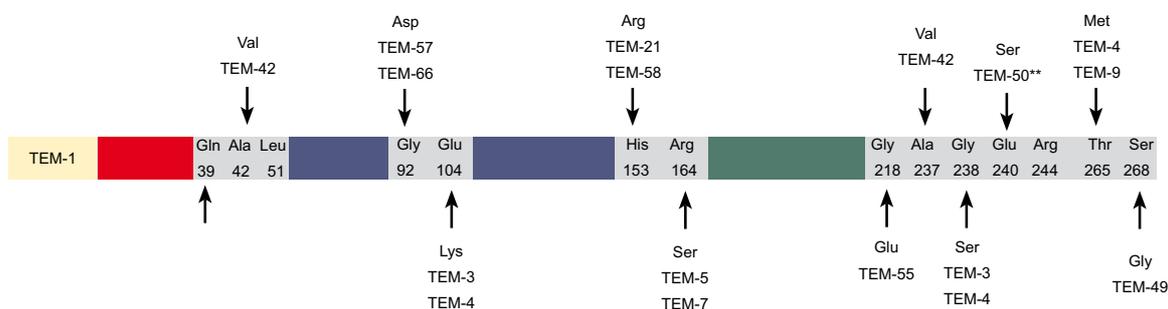
Estas betalactamasas fueron descritas en Alemania en un aislamiento de *E. coli* resistente

a cefalosporinas de 3ra generación, proveniente de una paciente griega llamada Temonieira, de ahí que el primer nombre de la familia de enzimas encontradas recibiera el nombre de familia de enzimas TEM. Por lo tanto, las enzimas que antes tenían actividad contra las penicilinas y cefalosporinas, adquieren actividad contra otros antibióticos como las cefalosporinas de tercera generación y aztreonam. Por esta razón se denominan betalactamasas de espectro extendido o BLEEs<sup>13, 17, 23</sup>.

La actividad de las BLEEs está relacionada con mutaciones puntuales que significan el cambio en uno o en pocos aminoácidos de la estructura original de las betalactamasas. Por ejemplo, en TEM 1, si se cambia lisina por glicina o lisina por glutamato, se modifica la actividad y forma la BLEE TEM3. En la betalactamasa inicial SHV1, si se cambia glicina por serina en la posición 238, se convierte en SHV2 con actividad de BLEE, que es codificada por plásmidos y, por lo tanto, es transferible. Se ha encontrado que estos cambios puntuales de aminoácidos en la secuencia original son causados por la presión selectiva ejercida por el uso masivo de antibióticos en los hospitales, principalmente en las UCIs (Figura 3)<sup>10, 11, 13, 14, 16-18, 31, 33, 38</sup>.

### DETECCIÓN DE BLEEs

La oportuna y correcta detección de BLEEs en *K. pneumoniae* es indispensable, no sólo para lograr un adecuado tratamiento y abordaje del paciente desde el inicio, sino para



**Figura 3.** Esquema que representa algunos cambios puntuales de aminoácidos en la proteína TEM. Adaptado de Bradford, P. *et al.* Clinical Microbiology Reviews. 2001, p.933-51

establecer inmediatamente medidas de control de infecciones intrahospitalarias y evitar la diseminación de este microorganismo<sup>12, 15, 24, 28, 29, 36</sup>.

Las BLEEs se asocian con resistencia a múltiples antibióticos como aminoglicósidos, cloranfenicol, TMP/SMX y quinolonas<sup>9, 12, 16, 22, 26, 27, 32</sup>, lo que implica que el clínico tenga pocas opciones para el tratamiento de pacientes con infecciones causadas por cepas de enterobacterias productoras de BLEEs, sobre todo cuando son infecciones serias como bacteriemias, neumonías nosocomiales o peritonitis.

La demora en identificar la presencia de BLEEs aumenta la mortalidad de los pacientes<sup>12,15</sup>. En un estudio realizado recientemente se analizaron 288 pacientes con aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* y se demostró un aumento en la mortalidad relacionado con el retardo en la detección de BLEEs<sup>19</sup>.

La detección de microorganismos productores de BLEEs no es fácil y no siempre son detectados con las pruebas de susceptibilidad usadas de rutina en los laboratorios de Microbiología<sup>13, 15, 17, 28, 34</sup>.

En presencia de BLEEs la concentración inhibitoria mínima no siempre aumenta a niveles suficientemente altos para entrar al rango de resistencia, según las guías del CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute). Por lo tanto, se recomienda adicionalmente a los métodos de sensibilidad utilizados (difusión de disco, automatizado, en caldo o agar) un método de tamizaje que permita hacer una detección efectiva de BLEEs cuando esté presente<sup>15,16, 21, 28</sup>.

La dificultad para detectar la presencia de BLEEs por métodos convencionales de sensibilidad a antibióticos se demuestra con la influencia del inóculo. En *K. pneumoniae* productora de BLEEs puede aparecer como sensible a las cefalosporinas cuando se usa un inóculo Standard de 105 UFC/ml, lo que

demuestra que la MIC es dependiente del tamaño del inóculo. Este efecto es visto con las cefalosporinas de tercera generación, cefotaxime, ceftriaxona, ceftazidima y con la de 4ta generación, cefepime<sup>37</sup>.

Por ejemplo, para *K. pneumoniae* productora de TEM 26, con un inóculo de 105 UFC/ml, la MIC para cefotaxime es 0,25 ug/ml, pero la MIC aumenta a 64 ug/ml cuando el inóculo se aumenta a 107 UFC/ml<sup>16</sup>. El CLSI recomienda confirmar la presencia de BLEEs cuando *K. pneumoniae* demuestra disminución de la sensibilidad a cefalosporinas de 3ra generación o aztreonam, si presenta MIC mayor de 2 ug/ml para ceftazidima, cefotaxima o ceftriaxona o aztreonam<sup>16-18</sup>.

Las BLEEs tienen preferencia por diferentes sustratos, un aislamiento de *K. pneumoniae* productor de BLEEs puede ser resistente a ceftazidime pero sensible a cefotaxime. Por lo tanto, si el test usado para hacer la detección se limita a utilizar una sola cefalosporina como sustrato, podría no ser detectada la resistencia a otras cefalosporinas. En consecuencia, se recomienda usar mínimo dos cefalosporinas para hacer la correcta detección de BLEEs<sup>13</sup>.

Estudios *in vivo* han demostrado que las combinaciones cefotaxime/clavulanato y piperacilina/tazobactam tienen actividad distinta contra cepas diferentes de *K. pneumoniae* productoras de BLEEs, lo que sugiere que su efectividad es muy dependiente de la dosis del agente y del tipo de enzima presente. Por lo tanto, se debe tener en cuenta que las combinaciones cefalosporina/inhibidor no siempre son efectivas contra las BLEEs<sup>16</sup>.

Según las guías del CLSI, los aislamientos de *K. pneumoniae* con test fenotípicos positivos para BLEEs, deben ser reportados como resistentes a todas las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam, excepto a las cefamicinas (cefoxitin y cefotetan), independiente de la MIC de éstas<sup>13</sup>.

De acuerdo con lo anterior, es importante la detección y la confirmación de la presencia de

estas enzimas ya que el tratamiento del paciente cambiaría desde el inicio y se disminuirían los fracasos terapéuticos y las complicaciones clínicas de las personas infectadas<sup>19</sup>.

### CONCLUSIONES

*K. pneumoniae* es un microorganismo de alta prevalencia en el ámbito hospitalario y presenta significativos mecanismos de resistencia, y el principal es la producción de betalactamasas, entre las que se encuentran las betalactamasas de espectro extendido o BLEEs.

Las BLEEs le confieren a *K. pneumoniae* resistencia frente a antibióticos betalactámicos y, en particular, a cefalosporinas de tercera generación, antibióticos de amplio uso en el mundo hospitalario. Por lo tanto, los médicos tratantes y el laboratorio, deben tener un conocimiento adecuado de este mecanismo de resistencia para sospechar y detectar su presencia, además de establecer un manejo y tratamiento adecuados para los pacientes.

Es preciso destacar la relevancia de los programas de control de infecciones intrahospitalarias y de los programas de vigilancia de resistencia a antibióticos regionales, ya que permiten evidenciar problemas de transmisión de patógenos resistentes y su circulación en las comunidades. Este conocimiento es indispensable, como primer paso, para definir y evaluar medidas de control que permitan contener el problema.

El uso prudente de antibióticos debe ser una prioridad en los hospitales y comunidades. Sólo de esta manera se podrán preservar estos medicamentos como herramientas indispensables para el manejo de las infecciones.

### DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los autores de este artículo declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

### REFERENCIAS

1. Peña C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallares R, Linares J, *et al.* An outbreak of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremia, including strains producing extended-spectrum beta-lactamase. *J Hosp Infect.* 2001; 47:53-9
2. Navarro M, Moreno B, Lopez B, Fragoso M. Detección de cepas de *Escherichia coli* y *klebsiella pneumoniae* productoras de  $\beta$ - lactamasas de espectro extendido (BLEE) en el hospital infantil del estado de Sonora. *Bol Clin Hosp Infant Edo Son.* 2005; 22(2):64-70
3. Rahal JJ, Urban C, Horn D, *et al.* Class restriction of cephalosporins use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *Klebsiella*. *JAMA.*1998; 280 (14):1233-7
4. Leal AL, Schmalbach JE, Álvarez C, Buitrago G, Méndez y Grebo M. Canales endémicos y marcadores de resistencia bacteriana, en instituciones de tercer nivel de Bogotá, Colombia. *Rev Salud Pública.* 2006; 8 (suppl 1): 59-70.
5. Hoyos-Orrego A, Rivera-Rivera O, Hoyos-Posada C, Mesa-Restrepo C, Alfaro-Velásquez JM. Características clínicas, epidemiológicas y de susceptibilidad a los antibióticos en casos de bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* en neonatos. *Rev CES Med.* 2007; 21(2):31-9
6. Grupo para el Estudio de la Resistencia a Antibióticos de Medellín [sede Web]. Medellín: Germen; 2009 [acceso junio de 2008]. Disponible en:[http:// www.grupogermen.org](http://www.grupogermen.org)
7. Tafur JD, Torres JA, Villegas MV. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio ACIN.* 2008; 12(3):217-26.
8. Gupta A, Della-Latta P, Todd B, San Gabriel P, Haas J, Fann Wu, *et al.* Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit linked to artificial nails. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2004; 25 (3):210-15
9. Diestra K, Coque TM, Miró E, Oteo J, Nicolau CJ, Campos J, *et al.* Caracterización y epidemiología molecular de betalactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en once hospitales españoles (2004). *Enf Infecc Microbiol Clin.* 2008; 26(7):404-10
10. Valverde A, Coque TM, García-San Miguel L, Baquero F, Canton R. Complex molecular epidemiology of extended-spectrum B-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: a long-term perspective from a single institution in Madrid. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 61:64–2
11. Gobernado M. Betalactamasas de espectro extendido en aumento. *Rev Esp Quimioterap.* 2005; 18(2):115-17

12. Paterson D. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. AJIC. 2006 Jun; 34(5 Suppl 1):20-8
13. Pérez F, Endimiani A, Hujer K M, Bonomo RA. The continuing challenge of ESBLs. Curr Opin Pharmacolog. 2007; 7(5):459-69
14. Gupta A, Ampofo K, Rubenstein D, Saiman L. Extended Spectrum B Lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* Infections: a review of the literature. J Perinatol. 2003; 23:439-43
15. Paterson D, Bonomo R. Extended-Spectrum B-Lactamases: a Clinical Update. Clin Microbiol Rev. 2005; 18 (4):657-86
16. Patterson J. Extended-Spectrum Beta-Lactamases. Semin Respir Crit Care Med. 2003; 24 (1):860-79.
17. Bradford P. Extended-Spectrum B-Lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 2001; 14(4):933-51
18. Harada S, Ishii Y, Yamaguchi K. Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases: implications for the clinical laboratory and therapy. Korean J Lab Med. 2008; 28:401-12
19. Hyle EP, Lipworth AD, Zaoutis TE, Nachamkin I, Bilker WB, Lautenbach E. Impact of inadequate initial antimicrobial therapy on mortality in infections due to extended-spectrum b-lactamase – producing enterobacteriaceae Arch Intern Med. 2005; 165:1376-80
20. Sahly H, Navon-Venezia S, Roesler L, Hay A, Carmeli Y, Podschun R, et al. Extended-Spectrum B-Lactamase production is associated with an increase in cell invasion and expression of fimbrial adhesins in *klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2008; 52(9):3029-34
21. Alpuche CM, Daza CA. Infecciones nosocomiales por bacterias Gram negativas resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos. Enf Infec Micro. 2002; 22(4):192-99
22. Robicsek A, Sahn DF, Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC. Broader distribution of plasmid-mediated quinolone resistance in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(7):3001-03
23. Paterson DL. Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum b-lactamases (ESBLs). Clin Microbiol Infect. 2000; 6:460-63
24. Marra AR, Wey SB, Castelo A, Gales AC, Guilherme R, Carmo Filho JR, et al. Nosocomial bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae*: impact of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) production on clinical outcome in a hospital with high ESBL prevalence. BMC Infect Dis. 2006; 24(6):1-8
25. Murray P, Jorgensen J, Pfaller M. Manual of Clinical microbiology. 9. ed. Metals Park, OH: ASM; 2007.
26. Díaz P, Bello H, Domínguez M, Trabal N, Mella S, et al. Resistencia a gentamicina, amikacina y ciprofloxacina en cepas hospitalarias de *Klebsiella pneumoniae* subespecie *pneumoniae* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. Rev Méd Chile. 2004; 132:1173-78
27. Álvarez C, Cortés J, Arango A, Correa C, Leal A, Grebo. Resistencia antimicrobiana en unidades de cuidado intensivo de Bogotá, Colombia, 2001-2003. Rev Salud Pública. 2006; 8 supl 1:86-101.
28. Irith W, Geiss H, Mack D, Stürzenburg E, Seifert H. Detection of extended-spectrum beta-lactamases among enterobacteriaceae by use of semiautomated microbiology systems and manual detection procedures. J Clin Microbiol. 2007; 45 (4):1167-74.
29. Ercis S, Sancak B, Kocagöz T, Kocagöz S, Hasçelik G, Bolmström A. Rapid 4 to 6 hour detection of extended-spectrum beta-lactamases in a routine laboratory, Scandinavian. Scand J Infect Dis. 2007; 39(9):781 - 85.
30. Giske C, Sundsfjord AS, Kahlmeter G, Woodford N, Nordmann P, et al. Redefining extended-spectrum B-lactamases: balancing science and clinical need. J Antimicrob Chemother. 2009; 63:1-4
31. Colodner R. Extended-spectrum B-lactamases: a challenge for clinical microbiologists and infection control specialists. Am J Infect Control. 2005; 33:104-07.
32. Bermejo J, Bencomo B, Arnesi N, Lesnaberes P, Borda N, Notario R. Alta correlación entre el consumo de ciprofloxacina y la prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* productora de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido Rev Chil Infect. 2006; 23 (4):316-20
33. Jacoby G. AmpC B-Lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009:161-82
34. Rahal JJ. Extended spectrum B-lactamases: how big is the problem? Clin Microbiol Infect. 2000; (suppl 2):2-6.
35. Hyle E, Lipworth A, Zaoutis T, Nachamkin I, Fishman N, Bilker W, et al. Risk factors for increasing multidrug resistance among extended-spectrum b-lactamase-producing *escherichia coli* and *klebsiella* species. Clin Infect Dis. 2005; 40:1317-24
36. Kola A, Maciejewski O, Sohr D, et al. Clinical impact of infections caused by ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae*. Scand J Infect Dis. 2007; 39(11):975-82.
37. Andrade V, Silva J; Grupo de Resistencia Bacteriana. Caracterización de *Klebsiella pneumoniae* productora de la B-lactamasa SHV-5, en una unidad de cuidados intensivos. Salud Pública Mex. 2004; 46:524-28.
38. Villegas MV, Correa A, Pérez F, Zuluaga T, Radice M, Gutkind G, et al. CTX-M-12 B-Lactamase in a *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolate in Colombia. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48(2): 629-31