

Resistencia a cefalosporinas de espectro extendido en enterobacterias sin AmpC inducible. Evaluación de los nuevos puntos de corte

MARCELA NASTRO*, LUCIANA MONTOTO PIAZZA, ELSA SAPOSNIK, SUSANA GARCÍA, CLAUDIA BARBERIS, CARLOS VAY, CARLOS H. RODRÍGUEZ, ANGELA FAMIGLIETTI

Laboratorio de Bacteriología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Av. Córdoba 2351 (1120) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Correspondencia. E-mail. marcelanastro@hotmail.com

RESUMEN

Los objetivos de este estudio fueron determinar la actividad *in vitro* de las cefalosporinas de espectro extendido frente a aislamientos clínicos de enterobacterias sin AmpC inducible y evaluar la utilidad de las normativas propuestas por el CLSI 2009 y de los puntos de corte recomendados por el CLSI 2010 y el EUCAST 2010. El análisis incluye la caracterización fenotípica y genotípica de los mecanismos de resistencia. En todos los aislamientos se realizó un antibiograma semicuantitativo y se determinó la CIM por dilución en agar. Asimismo, se realizó la detección fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), de AmpC plasmídica (AmpCp) y de carbapenemasas de tipo KPC. En los aislamientos que fueron resistentes a las cefalosporinas de espectro extendido (CEE) se evaluó, mediante PCR múltiple para *bla*_{SHV} y *bla*_{CTX-M} y PCR con cebadores específicos, el tipo de β -lactamasa prevalente y la presencia de KPC. Se recuperaron de pacientes 169 aislamientos resistentes a CEE: 95 de *Klebsiella pneumoniae*, 55 de *Escherichia coli* y 19 de *Proteus mirabilis*. La resistencia a CEE se verificó en el 56,2 %; 32,6 % y 11,2 % de estos conjuntos de aislamientos, respectivamente. Se detectó el fenotipo BLEE en 152 aislamientos (90 %), el fenotipo AmpCp en 12 (7 %) y el KPC en 5 (3 %). Las recomendaciones del CLSI 2009 y los puntos de corte del CLSI 2010 y del EUCAST 2010 para la ceftriaxona permitieron detectar eficientemente las BLEE, mientras que para la ceftazidima, con los puntos de corte del CLSI 2010 solo se detectó el 55 % de las BLEE. Esta discrepancia en los porcentajes de resistencia a ceftriaxona y a ceftazidima se relaciona con la presencia de CTX-M en nuestro medio. Los nuevos puntos de corte detectaron con mayor eficiencia las enzimas de tipo AmpCp.

Palabras clave: Enterobacterias, cefalosporinas, resistencia, puntos de corte

ABSTRACT

Resistance to extended-spectrum cephalosporins in non-inducible AmpC enterobacteria. Evaluation of the new MIC breakpoints. The aims of this study were to evaluate the *in vitro* activity of extended-spectrum cephalosporins (ESC) in non-inducible AmpC enterobacteria through phenotypic and genotypic characterization of the mechanisms of resistance (ESBL, plasmid-mediated AmpC and KPC) and to evaluate the interpretation criteria proposed by the existing recommendations and the new breakpoints established by the CLSI and the EUCAST. Susceptibility tests and PCR multiplex for *bla*_{SHV} and *bla*_{CTX-M} and amplification using specific primers was performed. One hundred sixty nine resistant isolates: *Klebsiella pneumoniae* (95), *Escherichia coli* (55), and *Proteus mirabilis* (19) were recovered. ESC resistance was 56.2 %, 32.6%, and 11.2 %, respectively. ESBL was detected in 152 (90 %) isolates, plasmid-mediated AmpC in 12 (7 %) and KPC in 5 (3 %). The CLSI 2009 recommendations and the breakpoints suggested by the CLSI 2010 and the EUCAST for ceftriaxone were efficacious to detect ESBL, whereas the different breakpoints for ceftazidime presented discrepancies. The CLSI 2010 breakpoints only detected 55 % of the ESBL-producing isolates due to the endemic presence of CTX-M ESBLs in our country. Regarding the plasmid-mediated AmpC producers, the recommendations of the CLSI 2010 and the EUCAST 2010 proved to be more efficient than the old ones.

Key words: Enterobacteria, cephalosporins, resistance, breakpoints

INTRODUCCIÓN

En las enterobacterias, la resistencia a antibióticos β -lactámicos, ampliamente utilizados en la práctica clínica, puede estar mediada por diversos mecanismos o por la combinación de varios de ellos. El más importante es la presencia de enzimas inactivantes: las β -lactamasas, de localización periplásmica, las cuales

pueden ser plasmídicas o cromosómicas. La actividad de las cefalosporinas de espectro extendido en estos bacilos gram negativos (BGN) se ve afectada por la presencia de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), por la hiperproducción de cefalosporinas de tipo AmpC cromosómicas o AmpC plasmídicas (AmpCp) y por carbapenemasas.

Los primeros informes de BLEE en la Argentina datan del año 1990 en aislados de *Salmonella* Typhimurium (3). Desde entonces, se ha observado su dispersión entre las diferentes enterobacterias y otros BGN (18, 19, 20). Una de las principales consecuencias de la amplia diseminación de enterobacterias con BLEE fue la mayor utilización de carbapenemes (16, 17). El cambio microbiológico más importante a fines de la década de los 90 fue la modificación de los puntos de corte para las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, teniendo en cuenta el criterio poblacional en aislamientos con sospecha de BLEE.

En estos últimos años, el mayor uso de carbapenemes derivó en la emergencia de resistencia a estos antimicrobianos, con la producción de carbapenemasas de tipo KPC como mecanismo de resistencia más frecuente. La principal consecuencia de esta resistencia extrema a los antibióticos β -lactámicos es la notoria disminución de las opciones terapéuticas (14).

En el año 2010, varias sociedades científicas han redefinido los puntos de corte de las cefalosporinas, Algunas de ellas, como el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), lo han hecho con un criterio exclusivamente farmacocinético y farmacodinámico (PK/PD) basado en el valor de la CIM, con regímenes de dosis establecidos e independientes del mecanismo de resistencia. Los puntos de corte recomendados por el CLSI están definidos para una dosificación de 1 g/24 h de ceftriaxona, 1 g/8 h de cefotaxima y ceftacídima, y 1 g/8 h o 2 g/12 h de cefepima (8). El *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), por su parte, si bien ya había efectuado la revisión en años anteriores, en 2010 publicó un documento en el que coincide en la disminución de los puntos de corte, de manera que permite categorizar clínicamente a la mayoría de los aislamientos con sensibilidad disminuida como resistentes (10, 12).

Los objetivos de este estudio fueron determinar la actividad *in vitro* de las cefalosporinas de espectro extendido (ceftriaxona, ceftacídima y cefepima) en aislamientos clínicos de enterobacterias sin AmpC inducible y evaluar la utilidad de las recomendaciones del CLSI 2009 y de los puntos de corte propuestos por el CLSI 2010 y el EUCAST 2010. El análisis incluye la caracterización fenotípica y genotípica de los mecanismos de resistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron prospectivamente aislamientos consecutivos de enterobacterias no productoras de AmpC inducible obtenidos

de pacientes atendidos en el Hospital de Clínicas "José de San Martín" durante el período julio 2009-abril 2010. Se incluyeron en el estudio los aislamientos resistentes a cefalotina (CIM \geq 32 μ g/ml) y a por lo menos una cefalosporina de tercera generación (CIM $>$ 1 μ g/ml), seleccionados a partir del antibiograma semicuantitativo de dos concentraciones útiles de Marcenac *et al.* (13). Las cefalosporinas ensayadas fueron ceftriaxona, ceftacídima y cefepima.

En todos los aislamientos se realizó la detección fenotípica de BLEE mediante la observación de sinergia con discos de ceftriaxona (30 μ g)-amoxicilina/clavulánico (20/10 μ g)-ceftacídima (30 μ g) (CRO-CLAV-CAZ) ubicados a 2,5-3 cm de borde a borde; de AmpC plasmídica (AmpCp) mediante la observación de sinergia con discos de ceftriaxona (30 μ g)-ácido 3-amino fenil borónico (300 μ g)-cefotaxina (30 μ g) (CRO-APB-FOX) ubicados a 2 cm de centro a centro; y de KPC mediante la detección de sinergia empleando discos de imipenem (10 μ g)-ácido 3-amino fenil borónico (300 μ g)-meropenem (10 μ g) (IMI-APB-MER) ubicados a 2 cm de centro a centro. Además, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) por el método de dilución en agar a CRO, CAZ y cefepima (FEP) siguiendo las recomendaciones del CLSI (8). Los puntos de corte recomendados por el CLSI 2009 y 2010, documentos M100 S-20 y M100 S-21, y los propuestos por el EUCAST 2010 se observan en la Tabla 1 (7, 8, 10).

Se realizó PCR múltiple para *bla*_{CTX-M} y *bla*_{SHV} (12) y PCR con cebadores específicos para *bla*_{CTX-M2} y *bla*_{PER-2} y *bla*_{KPC} (4, 6). Para la extracción del ADN se resuspendió una colonia de cada aislamiento en 200 μ l de agua destilada, se calentó a 100 °C durante 10 minutos y luego se centrifugó a 12 000 r.p.m. durante 2 minutos. Dos microlitros del sobrenadante se utilizaron como templado para las reacciones de amplificación. La reacción de PCR múltiple se realizó según protocolo establecido por el autor (12), mientras que las amplificaciones con cebadores específicos se realizaron en un volumen final de 25 μ l, utilizando 1,5 μ l de MgCl₂ 50 mM; 2,5 μ l de buffer Taq 10X; 1 μ l de dNTPs 10 mM; 2,5 μ l de cada cebador 10 μ M y 0,2 μ l de Taq DNA polimerasa (5 U/ μ l) (Fermentas). Las condiciones de amplificación incluyeron desnaturalización inicial a 95 °C 5 min, 25 ciclos con desnaturalización a 95 °C 1 min, elongación a 55 °C 1 min y polimerización a 72 °C 1 min, y extensión final a 72 °C durante 10 min. Los productos se revelaron por electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % en buffer TBE 1X con bromuro de etidio.

RESULTADOS

Durante el período de 10 meses estudiado se recuperaron 817 enterobacterias sin AmpC inducible, de las cuales 169 (21 %) cumplieron con los criterios de inclusión establecidos. La distribución según la especie fue la siguiente: 95 *Klebsiella pneumoniae*, 55 *Escherichia coli*, y 19 *Proteus mirabilis*. La resistencia a cefalosporinas de espectro extendido en el período estudiado fue del 56,2 % en *K. pneumoniae*, del 32,6 % en *E. coli* y del 11,2 % en *P. mirabilis*. Se detectó el fenotipo BLEE en 152 aislamientos (90 %), el cual resultó ser el principal mecanismo de resistencia hallado en este estudio, mientras que la presencia de AmpCp y de KPC fueron mecanismos que se registraron en una medida mucho más baja, en 12 (7 %) y 5

Tabla 1. Puntos de corte para CIM propuestos por el CLSI 2009 y 2010 y el EUCAST 2010

Antimicrobiano	CIM ($\mu\text{g/ml}$)							
	CLSI (2009) ⁽¹⁾			CLSI (2010)			EUCAST (2010)	
	S	I	R	S	I	R	S	R
Ceftriaxona	≤ 8	16-32	≥ 64	≤ 1	2	≥ 4	≤ 1	> 2
Ceftacidima	≤ 8	16	≥ 32	≤ 4	8	≥ 16	≤ 1	> 4
Cefepima	≤ 8	16	≥ 32	≤ 8	16	≥ 32	≤ 1	> 4

⁽¹⁾ en *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* se considera sospecha de BLEE frente a una CIM de ceftriaxona y/o ceftacidima $\geq 2 \mu\text{g/ml}$. La Subcomisión de antimicrobianos de SADEBAC incluye las mismas recomendaciones, y las extiende a *Salmonella* spp. y *Shigella* spp.

(3 %) aislamientos, respectivamente. Este último fenómeno se presentó en 5 aislamientos de *K. pneumoniae*, en los que también se detectó la presencia de BLEE. En 3 aislamientos se detectó la presencia simultánea de BLEE y de AmpCp. La distribución de los diferentes fenotipos de resistencia en las distintas especies se observa en la Figura 1.

La distribución de β -lactamasas halladas en *K. pneumoniae* fue la siguiente: CTX-M y SHV, 54 %; SHV, 21 %; CTX-M, 18 %; CTX-M, SHV y PER-2, 2 %. En *E. coli* la distribución fue: CTX-M, 66 %; CTX y SHV, 23 %; SHV, 8 %; PER-2, 4 %. En *P. mirabilis* se detectó un 44 % de CTX-M, un 25 % de CTX-M y SHV; y un 31 % de SHV. En el 5 % de los aislamientos de *K. pneumoniae* y en el 2 % de los aislamientos de *E. coli* no

se pudo determinar el tipo de β -lactamasa con los cebadores utilizados. Los aislamientos con *bla*_{KPC} presentaron, además, SHV (4 casos) y CTX-M (1 caso). El 76 % de los aislamientos con BLEE se recuperaron de pacientes hospitalizados, mientras que 5/12 aislamientos con AmpCp correspondieron a pacientes ambulatorios. El tracto urinario fue el sitio de infección más frecuente. El 82 % de los aislamientos de *E. coli* con BLEE, el 74 % de los de *P. mirabilis* y el 61 % de los de *K. pneumoniae* fueron de orina.

En la Tabla 2 se observa el porcentaje de resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido según el fenotipo hallado, de acuerdo a las recomendaciones del CLSI 2009 y a los puntos de corte del CLSI 2010 y del EUCAST 2010.

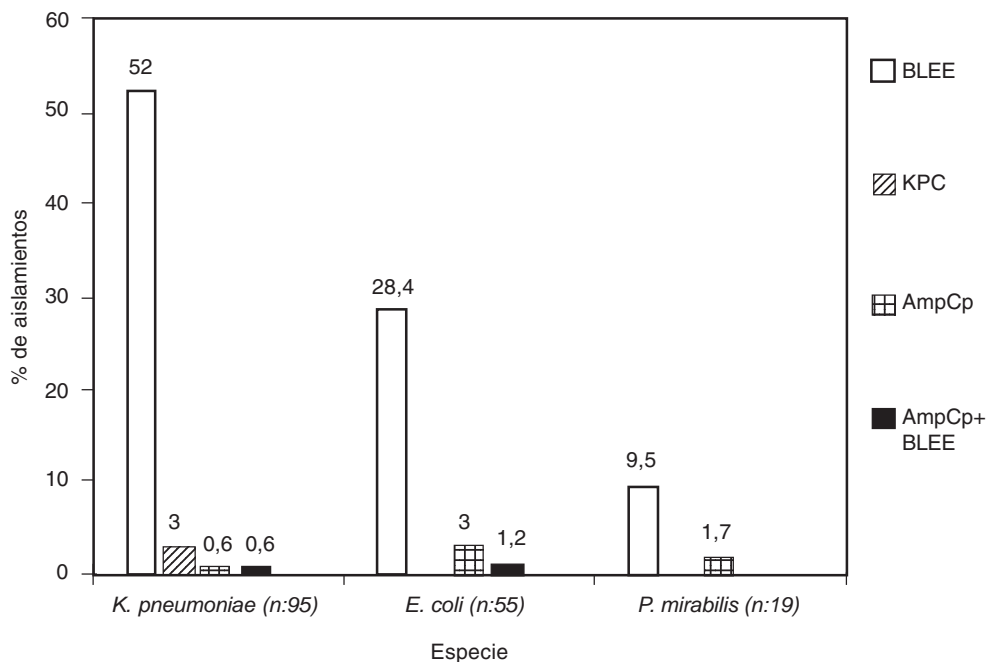


Figura 1. Resistencia fenotípica a las cefalosporinas de espectro extendido en enterobacterias sin AmpC inducible. Distribución según especie

Tabla 2. Porcentaje de resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido según el mecanismo de resistencia, la estrategia de detección recomendada por el CLSI 2009 y los puntos de corte establecidos por el CLSI 2010 y el EUCAST 2010

Fenotipo	Recomendaciones	N.º de aislamientos resistentes (% de resistencia)		
		CRO	CAZ	FEP
BLEE (152)	CLSI 2009 ⁽¹⁾	152(100)	152(100)	152(100)
	CLSI 2010	151(99)	83(55)	106(70)
	EUCAST 2010	151(99)	140(91)	148(96)
AmpCp (12)	CLSI 2009	4(31)	4(31)	0(0)
	CLSI 2010	12(100)	7(54)	0(0)
	EUCAST 2010	12(100)	12(100)	6(50)
KPC (5)	CLSI 2009	5(100)	5(100)	5(100)
	CLSI 2010	5(100)	5(100)	5(100)
	EUCAST 2010	5(100)	5(100)	5(100)

⁽¹⁾ incluye confirmación fenotípica del mecanismo**Tabla 3.** Distribución de los valores de CIM para las cefalosporinas de espectro extendido ensayadas en enterobacterias sin AmpC inducible productoras de BLEE

Antimicrobiano/especie (n)	CIM (µg/ml)							
	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	≥16
Ceftacidima								
<i>P. mirabilis</i> (16)	2	1	2	1	3	6		1
<i>E. coli</i> (48)				3	6	19	5	15
<i>K. pneumoniae</i> (88)		1		1		24	15	47
Ceftriaxona								
<i>P. mirabilis</i> (16)						7	6	3
<i>E. coli</i> (48)						3	1	44
<i>K. pneumoniae</i> (88)	1				2	3		82
Cefepima								
<i>P. mirabilis</i> (16)						10	2	4
<i>E. coli</i> (48)			1	1	2	8	3	33
<i>K. pneumoniae</i> (88)				2	1	10	6	69

n: número de aislamientos

Tabla 4. Distribución de los valores de CIM para las cefalosporinas de espectro extendido ensayadas en enterobacterias sin AmpC inducible productoras de AmpC plasmídica⁽¹⁾

Antimicrobiano/especie (n)	CIM (µg/ml)							
	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	≥16
Ceftacidima								
<i>P. mirabilis</i> (3)							1	2
<i>E. coli</i> (7)					2	2	1	2
<i>K. pneumoniae</i> (2)					1		1	
Ceftriaxona								
<i>P. mirabilis</i> (3)						1	2	
<i>E. coli</i> (7)					1	2	1	3
<i>K. pneumoniae</i> (2)						1		1
Cefepima								
<i>P. mirabilis</i> (3)				1		2		
<i>E. coli</i> (7)	1	1	1		1	2	1	
<i>K. pneumoniae</i> (2)			1	1				

n: número de aislamientos; ⁽¹⁾: En *E. coli* no se determinó si la AmpC era de origen cromosómico o plasmídico

Los valores de CIM hallados en las distintas especies según el tipo de β -lactamasa encontrada se observan en las Tablas 3 y 4.

DISCUSIÓN

En la Argentina, estudios previos documentaron la presencia predominante del fenotipo CTX-M-2 entre las BLEE (4, 18). En el presente estudio, el genotipo bla_{CTX-M} se detectó, solo o acompañado, en 116/152 aislamientos resistentes, aunque 78/116 correspondieron al grupo CTX-M-2.

Las pautas establecidas en el EUCAST 2010 detectaron eficientemente la presencia de BLEE en enterobacterias sin AmpC inducible con los puntos de corte sugeridos para CRO, CAZ y FEP (91-100 %), mientras que las del CLSI 2010 solo detectaron el 55 % y el 70 % de las BLEE para CAZ y FEP, respectivamente. Por el contrario, con ambos esquemas metodológicos se detectaron con mayor eficiencia las AmpCp que al hacerlo con el esquema propuesto en el CLSI 2009. Todos los aislamientos con KPC fueron eficientemente detectados, independientemente del punto de corte considerado. La discrepancia más importante en el informe de las cefalosporinas se observó en los aislamientos portadores de BLEE, mayormente al tomar en cuenta las recomendaciones del CLSI 2010. Los porcentajes de resistencia se distribuyeron de la siguiente manera: CRO-CAZ, 99 %-55 %; CRO-FEP, 99 %-70 %; CAZ-FEP, 55 %-70 %.

La presencia de BLEE de tipo CTX-M-2 afecta en mayor medida a los antibióticos CRO, CTX y FEP que a la CAZ, por lo cual los mayores cambios en los porcentajes de resistencia con las modificaciones de los puntos de corte del CLSI 2010 y del EUCAST 2010 se observan con respecto a la CAZ. Solo un aislamiento de *K. pneumoniae* con CIM de 0,125 μ g/ml, detectado fenotípicamente mediante la sinergia de doble disco, se recategorizaría como sensible a la CRO con los nuevos criterios del CLSI y del EUCAST 2010 (Tablas 2 y 3).

Con respecto a la CAZ, el porcentaje de aislamientos reconsiderados como sensibles según las nuevas recomendaciones del CLSI 2010 fue mayor (45 %) (Tabla 2). Cincuenta y ocho aislamientos presentaron un valor de CIM entre 2 y 4 μ g/ml, mientras que en 11 casos se verificó una CIM \leq 1 μ g/ml, estos aislamientos también se consideran sensibles según el EUCAST 2010 (Tabla 3).

Aunque el punto de corte para la FEP no ha sido modificado por el CLSI, el hecho de ser independiente del mecanismo de resistencia hace que se haya registrado un 30 % de aislamientos sensibles, 46 aislamientos presentan un valor de CIM entre 1 y 8 μ g/ml.

Con respecto a las recomendaciones del EUCAST 2010, solo 4 aislamientos se categorizarían como sensibles, con CIM \leq 1 μ g/ml (Tablas 2 y 3).

Si bien en la literatura científica se describen fracasos de tratamiento en aislamientos portadores de BLEE, independientemente del valor de la CIM, estos son mayores cuando la CIM se ubica entre 2 y 8 μ g/ml; sin embargo, algunos de estos aislamientos serían considerados resistentes con los nuevos criterios (15). Paterson *et al.* documentan que el 50 % de los casos en los que se determinó falla de tratamiento serían considerados resistentes con los nuevos puntos de corte. En un solo paciente se observó buena evolución clínica, a pesar de que según el valor de CIM, el aislamiento se categorizaría como resistente. Por otra parte, en una revisión anterior al año 2005, Andes y Craig hallaron una relación entre el éxito terapéutico y el valor de la CIM cuando esta fue de 1 μ g/ml en el 80 % de 42 BGN productores de BLEE, y en el 70 % cuando la CIM fue de 2 μ g/ml (2). Paterson *et al.* comunican en aislamientos con CIM \leq 1 μ g/ml, pero BLEE positivos, fracasos de tratamiento en 3 de 11 pacientes. Si bien los porcentajes son parecidos, las conclusiones de estos trabajos son opuestas. Sin embargo 6 años después se comunica que no hay diferencia estadísticamente significativa en la tasa de fracasos terapéuticos al comparar pacientes con bacteriemia por BGN productores de BLEE con CIM a FEP de 8 μ g/ml tratados con esta cefalosporina y con otros tratados con otros antimicrobianos (5).

Estos trabajos clínicos están apoyados en estudios *in vitro* y en modelos animales, en los que también se observan diferencias en los resultados (1, 9). Algunos estudios farmacodinámicos *in vitro* referidos a BGN con diferentes β -lactamasas (BLEE, AmpC, OXA-1) determinan que la inhibición del desarrollo bacteriano está en relación con el intervalo de tiempo durante el cual la concentración del antimicrobiano permanece por encima del valor de la CIM y no con la presencia de la β -lactamasa. A pesar de que la mayoría de las series están basadas en bacteriemias, la recomendación de informar las cefalosporinas resistentes en los aislamientos BLEE positivos es independiente del sitio de infección. Sobre la base de los nuevos estudios de PK/PD y a partir de interrogantes anteriormente planteados, estos criterios deberían ser reevaluados para los diferentes tipos de infección, sobre todo en aquellos sitios donde se concentran los β -lactámicos (15). Consideramos relevante continuar con la caracterización fenotípica de los aislamientos para detectar la presencia de BLEE.

La presencia de enzimas de tipo AmpC plasmídicas

provoca disociación en los perfiles de sensibilidad a las cefalosporinas de espectro extendido; la CRO, la CTX y la CAZ son hidrolizadas más eficientemente que la FEP. Esta disociación se evidencia mejor con las recomendaciones del CLSI 2010 para la CRO y la CAZ: todos los aislamientos presentaron CIM ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$ para estos antimicrobianos. Solo 3 aislamientos se recategorizarían como resistentes utilizando estos puntos de corte del CLSI para CAZ, mientras que con las recomendaciones del EUCAST 2010 la totalidad de los aislamientos serían informados como resistentes a CRO y CAZ (CIM ≥ 1 $\mu\text{g/ml}$). En cuanto a FEP, como se señaló antes, solamente el EUCAST permitiría informar 6/12 aislamientos como resistentes. Consideramos que se necesitaría un mayor número de aislamientos para una mejor evaluación de los nuevos criterios en este fenotipo de resistencia, que aún presenta una muy baja prevalencia en nuestro medio.

En conclusión, las recomendaciones del CLSI 2010 solo detectaron aproximadamente el 50 % de las BLEE con la CAZ y el 69 % con la FEP, debido en gran medida a la presencia de β -lactamasas de tipo CTX-M, las cuales presentan menor actividad hidrolítica sobre la CAZ y la FEP. El mayor desafío actual es determinar el verdadero impacto de los mecanismos de resistencia presentes en los microorganismos estudiados. Para ello es necesario interpretar los puntos de corte recomendados teniendo en cuenta la prevalencia de los mecanismos de resistencia, la localización de la infección y las opciones terapéuticas disponibles, las cuales son muy limitadas, más aún en aislamientos portadores de carbapenemasas de tipo KPC.

Agradecimientos: Este trabajo fue subsidiado mediante el Proyecto UBACYT B108 de la Universidad de Buenos Aires.

BIBLIOGRAFÍA

- Andes D, Craig W. Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 261-8.
- Andes D, Craig W. Treatment of infections with ESBL-producing organisms: pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 10-7.
- Bauernfeind A, Casellas JM, Goldberg M, Holley M, Jungwirth R, Mangold P, Röhnisch T, Schweighart S, Wilhelm R. A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella* Typhimurium. *Infection* 1992; 20: 158-63.
- Bertona E, Radice M, Rodríguez CH, Barberis C, Vay C, Famiglietti A, Gutkind G. Phenotypic and genotypic characterization of resistance to third-generation cephalosporins in *Enterobacter* spp. *Rev Argent Microbiol* 2005; 37: 203-8.
- Bhat S, Peleg A, Lodise T, Shutt K, Capitano B, Potoski B, Paterson DL. Failure of current cefepime breakpoint to predict clinical outcomes of bacteremia caused by gram-negative organisms. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 4390-5.
- Bradford PA, Bratu S, Urban C, Visalli M, Mariano N, Landman D, Rahal JJ, Brooks S, Cebular S, Quale J. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 beta-lactamases in New York City. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 55-60.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 19th Informational Supplement, 2009; M100-S19. Wayne, PA, EE.UU.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 20th Informational Supplement, 2010; M100-S20 and M100 S20 Supplement. Wayne, PA, EE.UU.
- Craig W. Pharmacokinetic/ pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1-12.
- European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical breakpoints 2010, table v. 1.1.
- Jemima SA, Verghese S. Multiplex PCR for *bla*_{CTX-M} & *bla*_{SHV} in the extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Gram-negative isolates. *Indian J Med Res* 2008; 128: 313-7.
- Kahlmeter G. Breakpoints for intravenously used cephalosporins in *Enterobacteriaceae*- EUCAST and CLSI breakpoints. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 169-74.
- Marcenac F, Fernández A, Herran I, Civalero T. Semiquantitative determination of resistance in agar. *Arzneimittelforschung* 1978; 28: 582-5.
- Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* 2009; 228-36.
- Paterson D, Ko W, Von Gotteberg A, Casellas J, Mulazimoglu L, Klugman K, Bonomo RA, Rice LB, McCormack JG, Yu VL. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organism producing extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2206-12.
- Paterson D, Bonomo R. Extended-spectrum β - lactamases: a clinical update. *Clin Microb Rev* 2005; 18: 657-86.
- Queenan A, Bush K. Carbapenemas: the versatile β -lactamases. *Clin Microb Rev* 2007; 20: 440-58.
- Quinteros M, Radice M, Gardella N, Rodríguez MM, Costa N, Korbenfeld D, Couto E, Gutkind G, and the Microbiology Study Group. Extended-spectrum β -lactamases in *Enterobacteriaceae* in Buenos Aires, Argentina, public hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2864-7.
- Quinteros M, Radice M, Giovanakis M, Famiglietti A. Sistema informático de resistencia (SIR). Análisis de los datos de pacientes internados. Años 2006-2007. Disponible en: <http://www.aam.org.ar>.
- Rodríguez CH, Juárez J, de Mier C, Pugliese L, Blanco G, Vay C, Famiglietti A. Resistencia a antibióticos de bacilos gram negativos aislados en unidades de cuidados intensivos. Análisis comparativo de dos períodos (1998-2001). *Medicina (Buenos Aires)* 2003; 63: 21-7.