Colonización fecal por cepas de *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en una Unidad Neonatal de Cuidados Intensivos

María Celia Desimoni[a], Graciela Patricia Esquivel[b] y Luis Antonio Merino[b,c]

[a]Hospital J.R. Vidal. Necochea. Corrientes. Argentina. [b]Cátedra de Microbiología e Inmunología. Facultad de Medicina. [c]Departamento de Bacteriología. Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste. Resistencia. Argentina.

ANTECEDENTES. La colonización fecal por bacterias multirresistentes puede resultar una fuente de infecciones nosocomiales. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la colonización fecal por *Klebsiella pneumoniae* en pacientes internados en una Unidad Neonatal de Cuidados Intensivos (UNCI), a la vez que determinar los perfiles de resistencia de las cepas recuperadas.
MÉTODOS. Entre mayo y octubre de 2001 se realizaron 11 muestreos de materia fecal de todos los pacientes internados en la UNCI, totalizándose 425 muestras. En las cepas de *K. pneumoniae* recuperadas se estudió la sensibilidad a diferentes antimicrobianos y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue aplicada en 30 cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación para detectar el gen $bla_{CTX-M-2}$.
RESULTADOS. En el 66% de las muestras creció *K. pneumoniae,* de las cuales un 82,5% eran productoras de betalactamasa de espectro extendido (*K. pneumoniae*-BLEE), lo cual representó el 54,3% del total de muestras estudiadas. Sobre la población colonizada con *K. pneumoniae*-BLEE (56% de los pacientes) no se observaron diferencias significativas entre la tasa de colonización y la forma de nacimiento ni el sexo, pero sí con la edad gestacional. En las cepas productoras de BLEE se observó resistencia a gentamicina en el 97,3% y resistencia a amikacina en el 71,4%; todas ellas fueron sensibles a cefoxitina e imipenem, y más del 90% fueron sensibles a ciprofloxacino y piperacilina/tazobactam. En todas las cepas resistentes a cefotaxima estudiadas por PCR se obtuvo una amplificación compatible con una betalactamasa de la familia CTX-M.
CONCLUSIÓN. Un alto porcentaje de los pacientes de la UNCI estuvo colonizado por una cepa de *K. pneumoniae* productora de una betalactamasa de la familia CTX-M, con elevadas tasas de resistencia acompañante a aminoglucósidos, siendo la edad gestacional la única variable que presentó diferencias significativas entre neonatos colonizados y libres de colonización.

***Palabras clave: Klebsiella pneumoniae.* Betalactamasas de espectro extendido. Resistencia antimicrobiana. Unidad de Cuidados Intensivos. Colonización fecal.**

Fecal colonization by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit

BACKGROUND. Fecal colonization by multiresistant bacteria can be a source of nosocomial infections. The aim of this work was to study fecal colonization by *Klebsiella pneumoniae* in neonatal intensive care unit (NICU) patients and investigate the resistance profiles of the strains.
METHODS. From May to October 2001, 11 stool specimens were collected from each patient hospitalized in the NICU during this period (425 specimens). Antimicrobial susceptibility was determined in *K. pneumoniae* isolates, and 30 strains resistant to third-generation cephalosporins were tested by polymerase chain reaction (PCR) to detect the $bla_{CTX-M-2}$ gene.
RESULTS. *K. pneumoniae* grew in the 66% of the samples. Extended-spectrum β-lactamases (ESBL) were detected in 82.5% of these strains (ESBL-*K. pneumoniae*), 54.3% of all the strains studied. Among the neonates colonized by ESBL-*K. pneumoniae* (56% of patients), significant differences in colonization rates were observed according to gestational age, but not according to the mode of delivery or sex. ESBL-*K. pneumoniae* strains showed a high frequency of gentamicin resistance (97.3%) and amikacin resistance (71.4%). Nevertheless, they were all susceptible to cefoxitin and imipenem, and more than 90% were also susceptible to ciprofloxacin and piperacillin-tazobactam. In all the cefotaxime-resistant strains, an amplicon consistent with a CTX-M-type β-lactamase was found by PCR.
CONCLUSION. A high percentage of NICU patients were colonized with ESBL-*K. pneumoniae* strains belonging to the CTX-M family, with elevated rates of aminoglycoside resistance. Gestational age was the only variable associated with significant differences in colonization rates.

***Key words: K. pneumoniae.* Extended-spectrum β-lactamase. Antimicrobial resistance. Intensive care unit. Fecal colonization.**

Correspondencia: Dr. L.A. Merino.
Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste.
Avda. Las Heras, 727. 3500 Resistencia. Argentina.
Correo electrónico: lmerino@arnet.com.ar

Manuscrito recibido el 18-12-2003; aceptado el 21-4-2004.

Introducción

Klebsiella pneumoniae puede ser aislada entre un 1 y un 6% en la orofaringe y entre el 5 al 38% en heces de personas normales, y estos valores pueden aumentar a un 19% en la orofaringe y un 77% en materia fecal cuando el paciente se encuentra hospitalizado, lo que representa uno de los principales reservorios para la transmisión hospitalaria de la bacteria[1]. Esta colonización suele iniciarse antes del décimo día de hospitalización y puede constituir una fuente de infecciones, que, en general, ocurren en pacientes con condiciones debilitantes[2].

Una característica particular de las cepas productoras de brotes nosocomiales es la resistencia a múltiples antimicrobianos, lo que puede llevar a la ineficacia de la mayoría de aquéllos usados en la práctica clínica. Entre los perfiles de resistencia comunicados con más frecuencia entre cepas de *K. pneumoniae* productoras de infecciones nosocomiales se encuentran la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), generalmente acompañada por resistencia a otros antibióticos[1,3].

Durante los meses de verano de 2000 y 2001, los medios locales de difusión informaron sobre la existencia de un brote de infección hospitalaria por *K. pneumoniae* como la causa del incremento en la mortalidad de los neonatos internados en el Hospital "Dr. J.R. Vidal", lo que ocasionó un fuerte impacto en la opinión pública y una gran preocupación de las autoridades responsables de la salud a nivel provincial[4].

En efecto, un informe elevado por un Comité Infectológico de Emergencia constituido en el hospital afectado demostró que la prevalencia de infección hospitalaria en el Servicio de Neonatología aumentó de un 12,9 a un 29,1% con respecto a los 2 meses anteriores, con aislamientos de *K. pneumoniae* en el 90% de los pacientes infectados (Grossi ME et al, Comunicación personal). Esto motivó la realización de un estudio para evaluar la colonización fecal por *K. pneumoniae* de los pacientes internados en el Servicio de Neonatología del Hospital "J.R. Vidal" de la ciudad de Corrientes, Argentina, y para estudiar los perfiles de resistencia de las cepas recuperadas en estos pacientes.

Métodos

El Servicio de Neonatología del Hospital "Dr. J.R. Vidal" de la ciudad de Corrientes posee un promedio de 40 incubadoras/cunas donde se reciben pacientes de menos de 30 días de edad. Por su complejidad, es un centro de derivación de otros hospitales y centros privados de la capital e interior de la provincia. La mayoría de la población que asiste al mismo puede considerarse de bajo nivel socioeconómico.

A partir de los registros del laboratorio de bacteriología del Hospital, de las historias clínicas de los pacientes y del libro de actas de nacimientos del año 2001, se registraron para cada paciente datos demográficos (edad gestacional, sexo, tipo de parto y fecha de nacimiento) e infectológicos (hallazgos bacteriológicos e infecciones documentadas clínicamente durante el muestreo y posteriores al mismo).

El estudio se dividió en dos períodos: período 1 (de mayo a agosto de 2001) durante el cual se realizaron nueve muestreos, y período 2 (septiembre y octubre de 2001) en el cual se realizaron dos muestreos, uno cada mes.

Durante los días de muestreo se recolectaron heces de todos los niños que se encontraban en el Servicio en ese momento. Estas muestras se tomaron con hisopos y se transportaron en medio de Stuart hasta el laboratorio donde fueron procesadas el mismo día. Se sembraron en agar de MacConkey y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Las colonias desarrolladas se identificaron mediante pruebas bioquímicas clásicas[5].

Los estudios de sensibilidad en ambos períodos se realizaron por el método de difusión con discos según recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)[6], frente a los siguientes antibióticos: ampicilina, ampicilina/sulbactama, ceftazidima, cefotaxima, gentamicina, amikacina, ciprofloxacino, imipenem, piperacilina/tazobactam y cefoxitina.

Durante el período 2, además de los métodos mencionados para el período 1, para confirmar la producción de BLEE se utilizó el disco combinado cefotaxima/ácido clavulánico[7]. Adicionalmente se determinaron las concentraciones inhibidoras mínimas (CIM) frente a cefotaxima y ceftazidima mediante dilución en agar según recomendaciones del NCCLS[7], y frente a cefotaxima mediante E-test de acuerdo con las directivas de los fabricantes (AB Biodisk, Solna, Suecia).

Se consideró a una cepa de *K. pneumoniae* como productora de BLEE (*K. pneumoniae*-BLEE) cuando presentó las siguientes condiciones sugeridas por el NCCLS[6,7]: halo frente a cefotaxima igual o inferior a 27 mm o frente a ceftazidima igual o inferior a 23 mm, incremento igual o superior a 5 mm en el halo cuando se probó cefotaxima/ácido clavulánico frente a cefotaxima y CIM para cefotaxima o ceftazidima igual o superior a 2 μg/ml.

El control de calidad para todas las pruebas de sensibilidad se realizó utilizando las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue aplicada en 30 cepas resistentes a cefotaxima aisladas en el período 2 para detectar el gen $bla_{\text{CTX-M-2}}$ utilizando el siguiente par de cebadores de acuerdo con parámetros previamente publicados[8,9]: CTX-M-2F ATG ATG ACT CAG AGC ATT CG y CTX-M-2R TTA TTG CAT CAG AAA CCG TG. Se incluyó un control positivo, un control negativo y un blanco de reacción. Los amplificados se corrieron en gel de agarosa, el cual se coloreó con 0,5 μg/ml de bromuro de etidio, y se fotografió con película Polaroid 667 (Polaroid de México, Colonia Chapultepec Polanco, México D.F.).

Los datos se procesaron mediante el programa EPI Info 6.0 (CDC, Atlanta, Georgia) y Microsoft Excel. La diferencia entre medias de variables continuas se analizó mediante la prueba de t de Student, y la correlación estadística entre variables discretas se estudió mediante la prueba de chi cuadrado (χ^2), con un nivel de significación para $p < 0,05$.

Resultados

Durante ambos períodos de estudio se incluyeron 309 pacientes (230 en el período 1 y 79 en el período 2). Cuando la estancia del neonato fue prolongada, un mismo paciente pudo estar incluido en varios muestreos, por lo cual se estudió un total de 425 muestras.

El 52,1% de los neonatos fueron del sexo masculino y el 47,9% del sexo femenino. La edad gestacional al momento de nacer presentó una media de 35,7 semanas (límite, 25-42). Con respecto al tipo de parto, el 42,9% nacieron por cesárea y el 57,1% lo hicieron por parto normal.

K. pneumoniae creció en 280 de las 425 (66%) muestras de materia fecal evaluadas durante los dos períodos de estudio. De los 280 aislamientos, 231 (82,5%) fueron productores de BLEE. Esto supone que en el 54,3% del total de muestras estudiadas creció una cepa de *K. pneumoniae*-BLEE. Dado que varias muestras pudieron corresponder a un mismo paciente, los datos obtenidos indicaron que 173 pacientes (56%) estaban colonizados con *K. pneumoniae*-BLEE.

En la población colonizada con *K. pneumoniae*-BLEE no se observaron diferencias significativas entre la tasa de

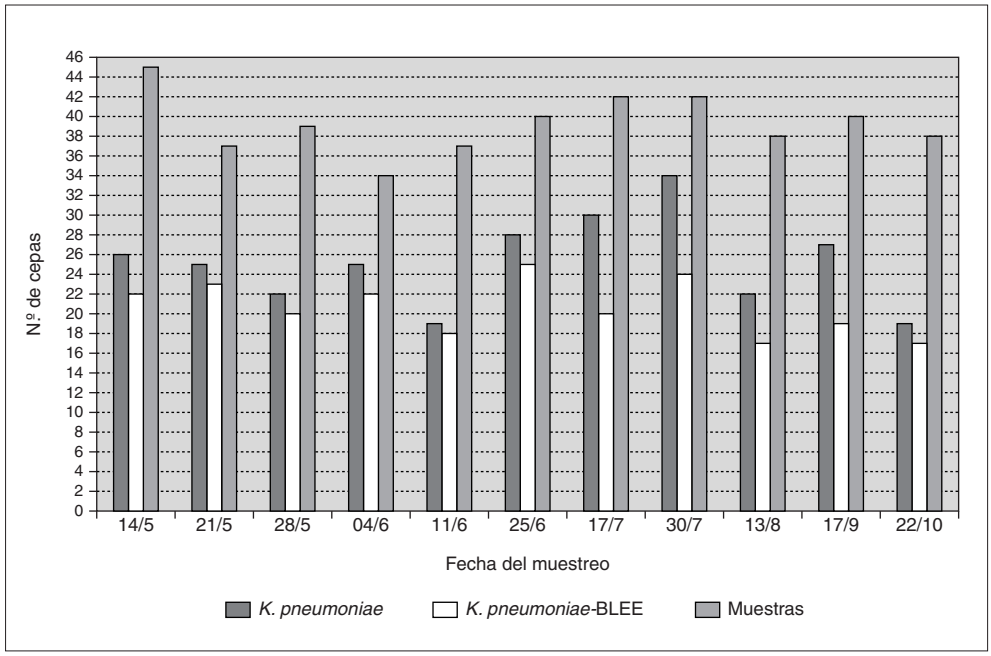

Figura 1. Relación entre colonización fecal por cepas de *K. pneumoniae* y cepas de *K. pneumoniae*-BLEE en función de la fecha de muestreo (día/mes).

colonización y la forma de nacimiento (p = 0,13) ni el sexo (p = 0,50), pero sí con la edad gestacional (p = 0,03).

En todos los muestreos realizados se recuperaron altas tasas de cepas de *K. pneumoniae*-BLEE. La relación entre colonización con *K. pneumoniae* y *K. pneumoniae*-BLEE se muestra en la figura 1.

En la tabla 1 se presenta a los pacientes colonizados con *K. pneumoniae*-BLEE que posteriormente desarrollaron infección por este germen clínicamente valorada según la historia clínica de cada paciente, indicándose el sitio de infección y la fecha de recuperación de las cepas.

Entre las 46 cepas aisladas en el segundo período, 36 presentaron halos de resistencia frente a cefotaxima y disminución en los halos de ceftazidima compatibles con la producción de BLEE, y en la prueba confirmatoria utilizando el doble disco cefotaxima-cefotaxima/ácido clavulánico se evidenció una diferencia de halo de más de 5 mm en todas ellas. Sin embargo, la reducción de halos para ceftazidima no presentó la misma magnitud que para cefotaxima. La resistencia acompañante a cefotaxima fue del 97,7% para gentamicina y del 71,4% para amikacina, mientras que se mantuvo la sensibilidad frente a ciprofloxacino, piperacilina-tazobactam, cefoxitina e imipenem en un 96 %, 92 %, 100 % y 100%, respectivamente. Las CIM para cefotaxima y ceftazidima de las cepas en las cuales se confirmó la presentación de BLEE mediante la prueba del doble disco se presentan en la figura 2. Los resultados del método de dilución en placa y del E-test fueron coincidentes. En todas las cepas resistentes a cefotaxima estudiadas por PCR se obtuvo una amplificación de aproximadamente 900 bp compatible con una betalactamasa de la familia CTX-M (fig. 3).

TABLA 1. **Pacientes colonizados con cepas de *K. pneumoniae*-BLEE que desarrollaron infección por esta bacteria**

Paciente	Origen del aislamiento	Fecha del muestreo	Fecha del aislamiento a partir del sitio de infección
1	Sangre y LCR	14/05/01	15/05/01
2	Absceso	11/06/01	12/06/01
3	Sangre	17/07/01	20/07/01
4	Sangre y LCR	13/08/01	17/08/01
5	Sangre	17/09/01	26/09/01
6	Punta de catéter	17/09/01	02/10/01
7	Orina	17/09/01	19/10/01

BLEE: betalactamasa de espectro extendido; LCR: líquido cefalorraquídeo.

Discusión

La colonización fecal por *K. pneumoniae*-BLEE ya ha sido publicada por otros autores como Farinati et al[10], quienes en un estudio realizado en una maternidad de la ciudad de Buenos Aires (Argentina) aislaron un 52,6% de cepas productoras de BLEE como colonizante del tracto gastrointestinal de los neonatos.

Analizando los casos de pacientes colonizados con *K. pneumoniae*-BLEE en los cuales se evidenció clínicamente algún tipo de infección durante el período de estudio, puede observarse que la tasa de infección es baja con respecto a los porcentajes elevados de colonización, aunque esa infección haya estado siempre precedida por una colonización fecal. Es por ello que puede afirmarse en coincidencia con trabajos previos, que si bien la colonización intestinal se constituye en un factor necesario para la aparición de una infección extraintestinal, otros factores tanto del huésped (enfermedades asociadas, función gástrica, motilidad intestinal, tratamientos farmacológicos, etc.) como ambientales (hacinamiento, estación del año, higiene) contribuirían en mayor medida a la instauración de dichas infecciones[1]. Esta observación fue confirmada por el hecho de que no se presentaron brotes por *K. pneumoniae* en el verano siguiente al muestreo realizado (2001-2002), estación en la cual son mayores las probabilidades de que

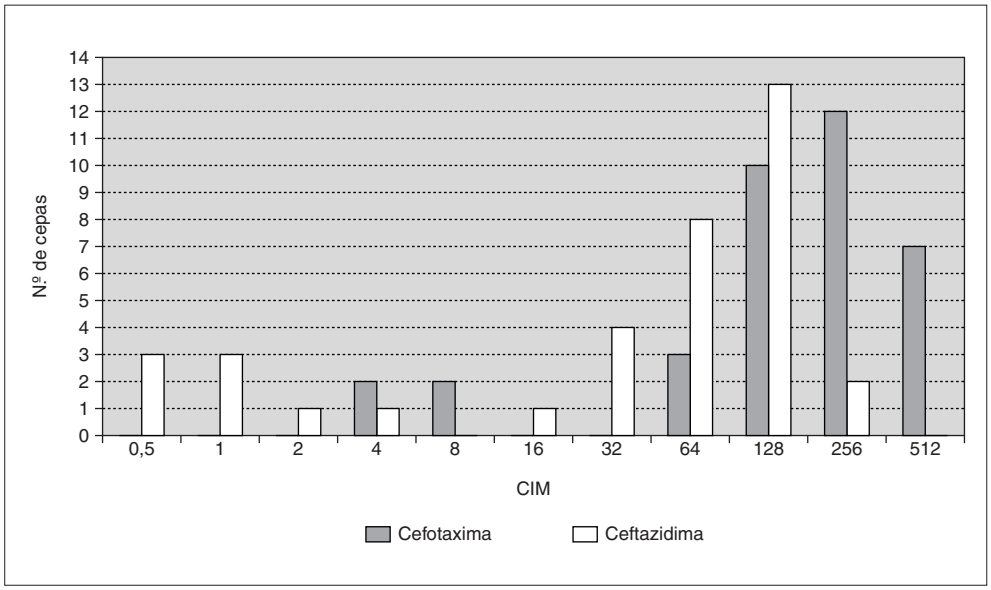

Figura 2. Distribución de las CIM frente a cefotaxima y ceftazidima de las cepas de *K. pneumoniae*-BLEE recuperadas en el segundo período de estudio.

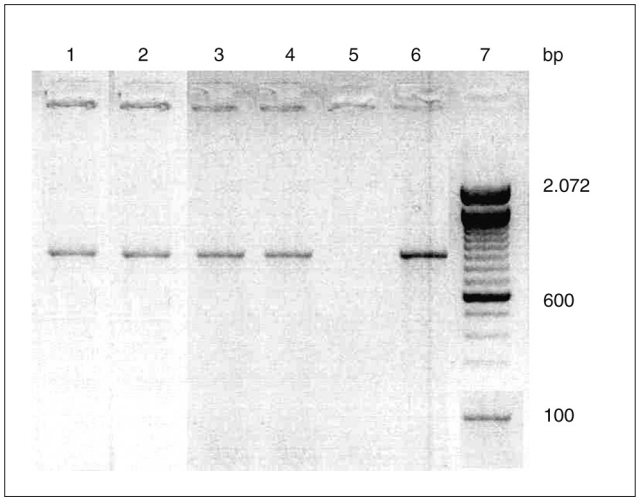

Figura 3. PCR de las cepas de *K. pneumoniae* utilizando los cebadores para $bla_{CTX-M-2}$. Líneas 1 a 4: cepas resistentes a cefotaxima seleccionadas al azar. Línea 5: control negativo. Línea 6: control positivo. Línea 7: marcador de pesos moleculares de 100 bp.

aumenten las infecciones en el Servicio de Neonatología, según registros anteriores del Hospital. Esto guardaría relación con las medidas implementadas por las autoridades, como son modificaciones en la infraestructura de las salas y en el personal de enfermería.

Un estudio español que analiza la incidencia y los factores de riesgo de infecciones nosocomiales neonatales comprueba que los factores extrínsecos de riesgo (estancia prolongada, presencia de catéteres vasculares y ventilación mecánica) son mucho más importantes que los intrínsecos del recién nacido, y sólo se identificaron como significativamente influyente a la cateterización de la arteria umbilical y a los días de estancia[3].

Diferentes autores han informado de la presencia de cepas de *K. pneumoniae* en hospitales pediátricos, haciendo referencia en la mayoría de los casos a aquellas que presentaron resistencia a cefalosporinas de tercera generación[10-12].

Los resultados obtenidos mediante las diferentes pruebas de sensibilidad aplicadas a las cepas recuperadas, sumados a los de la amplificación mediante PCR, están indicando la presencia de una betalactamasa de espectro extendido de la familia CTX-M[9]. Estas betalactamasas poseen actividad de cefotaximasa con pobre o nula actividad frente a cefoxitina. Muchas de ellas son más activas frente a cefotaxima que frente a ceftazidima o aztreonam, a la vez que son capaces de ser inhibidas por los inhibidores de betalactamasas como sulbactam, tazobactam y ácido clavulánico[13].

La diferencia de actividad sobre las diferentes cefalosporinas en las cepas de *K. pneumoniae* colonizantes se aprecia en la variación de los halos de inhibición y en las CIM encontrados para cefotaxima y ceftazidima. Sin embargo, la presencia simultánea de otra BLEE del tipo TEM o SHV podría hacer que ambas cefalosporinas se vieran afectadas de forma similar, lo que se traduciría en halos menores y CIM más elevadas para ceftazidima[14].

Según los resultados obtenidos de un programa de vigilancia sobre BLEE, en Argentina las BLEE más prevalentes entre *K. pneumoniae* son las del tipo CTX-M-2, con un 62% de aislamientos productores, seguidas de PER-2 (12%), SHV-2 (11%), SHV-5 (10%) y combinaciones de ellas (5%)[15].

La resistencia acompañante encontrada en el presente trabajo estaría indicando que los probables agentes seleccionadores de las cepas colonizantes son los aminoglucósidos y las cefalosporinas de tercera generación, tal como lo han señalado Asensio et al[3] al estudiar un brote por *K. pneumoniae* en una Unidad Neonatal de Cuidados Intensivos (UNCI).

En la ciudad de Córdoba (Argentina), Saka et al[11] encontraron que en un hospital pediátrico el 60% de las cepas de *K. pneumoniae* eran productoras de una BLEE, un 81% de las cuales producían una enzima de punto isoeléctrico 7,9 compatible con CTX-M-2. Estas cepas presentaron valores de CIM_{90} de 256 μg/ml para cefotaxima y de 32 μg/ml para ceftazidima. En coincidencia con el presen-

te trabajo, la resistencia a gentamicina estuvo presente en casi la totalidad de las cepas de *K. pneumoniae* estudiadas por Galas et al[15].

La colonización por cepas de *K. pneumoniae*-BLEE puede conducir a la diseminación de estas cepas dentro de la UNCI, derivando en ocasiones en infecciones nosocomiales aisladas o en forma de brotes. Al realizar un estudio multicéntrico de las cepas hospitalarias de *K. pneumoniae*-BLEE en España, Hernández et al[16] señalan que la mayoría de las cepas provenían de las Salas de Cuidados Intensivos y Pediatría.

Se han descrito múltiples epidemias de infecciones nosocomiales en Unidades de Terapia Intensiva Neonatal causadas por gérmenes multirresistentes como son brotes por *K. pneumoniae* resistentes a gentamicina y cefalosporinas con sensibilidad única a imipenem y quinolonas o piperacilina-tazobactam, lo cual ha ocasionado cambios en la política antibiótica de múltiples Unidades[17].

Casellas et al[18] plantean la necesidad de evitar la proliferación de cepas de *Klebsiella* en el medio hospitalario, a la vez que evitar la colonización fecal de los pacientes y controlar los eventuales portadores de cepas productoras de BLEE.

Entre las 36 cepas productoras de BLEE estudiadas en el segundo período se observó una dispersión importante tanto en los valores de CIM para cefotaxima (4 a 512 μg/ml) como para ceftazidima (0,5 a 256 μg/ml). Esto podría deberse a la existencia de diferentes clones o a variaciones individuales dentro de cada cepa, como son la presencia simultánea de varias betalactamasas, diferente número de copias del mismo gen y/o factores que afecten a la impermeabilidad e incluso adaptaciones de las cepas a la presión antimicrobiana ejercida a través del tiempo, ya que algunos de los aislamientos se produjeron con casi un mes de diferencia. Circunstancias similares fueron descritas por otros autores en cepas de *K. pneumoniae* presumiblemente endémicas que presentaron un idéntico perfil de bandas mediante electroforesis en campo pulsátil, pero que mostraron variaciones en sus perfiles de susceptibilidad y nivel de producción de BLEE[12,19].

Sobre la base de los resultados obtenidos puede concluirse que casi la mitad de los pacientes de la UNCI estuvieron colonizados por una cepa de *K. pneumoniae*-BLEE. En muchos de los casos esta BLEE pertenece a la familia CTX-M. Las cepas presentaron altas tasas de resistencia acompañante a gentamicina y, en menor medida, a amikacina. La única variable que presentó diferencias significativas entre neonatos colonizados y libres de colonización fue la edad gestacional.

Por todo ello, debería instaurarse un sistema de vigilancia desde el laboratorio de microbiología a fin de detectar cualquier infección producida por bacterias con las características encontradas en los pacientes colonizados y poder alertar sobre la aparición de brotes nosocomiales.

Bibliografía

1. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev 1998;11:589-603.
2. Makhoul IR, Sujov P, Ardekian L, Kassis I, Somolkin T, Elnaa IA, et al. Factors influencing oral colonization in premature infants. IMAJ 2002;4:98-101.
3. Asensio A, Oliver A, González Diego P, Baquero F, Pérez Díaz JC, Ros P, et al. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. Clin Infec Dis 2000;30:55-60.
4. Anónimo. Hospital Vidal: al menos seis recién nacidos habrían muerto infectados por una bacteria. El Libertador 13 de febrero de 2001; Locales p. 7.
5. Abbott S. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter* and *Serratia*. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, editors. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM Press. p. 475-82.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. 6th ed. Approved standard M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pennsylvania, 2001.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7 – A5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pennsylvania. 2001.
8. Radice M, González C, Power P, Vidal MC, Gutkind G. Third generation cephalosporin resistance in *Shigella sonnei*, Argentina. Emerg Infect Dis 2001; 7:1-2.
9. Steward CD, Rashedd JK, Hubert SK, Biddle JW, Raney PM, Anderson GJ, et al. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards Extended-spectrum β-lactamasa detection methods. J Clin Microbiol 2001;39:2864-72.
10. Farinati A, Bernaldo de Quiróz I, Pollak M, Jugo M, Villar H, Torrero M, et al. Diseminación plasmídica como responsable de la resistencia antibiótica durante un brote de *Klebsiella pneumoniae* en una unidad de cuidados intensivos neonatales. Infectol Microbiol Clin 1994;6:175-81.
11. Saka HA, Egea M, Culasso C, Rollan R, Avaro A, Carvajal L. β-lactamasas de espectro extendido en *Klebsiella pneumoniae* aisladas en el Hospital de Niños de Córdoba, Argentina. Rev Arg Microbiol Clin 2003;35:1-7.
12. Essack SY, Hall LMC, Pillay DG, Mcfadyen ML, Livermore DM. Complexity and diversity of *Klebsiella pneumoniae* strains with extended-spectrum β-lactamases isolated in 1994 and 1996 at a Teaching Hospital in Durban, South Africa. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:88-95.
13. Pujol M, Peña C. El significado clínico de las betalactamasas de espectro extendido. Enferm Infecc Microbiol Clin 2003;21:69-71.
14. Quiroga M, Vergara M, Stefañuk R, Cáceres MG, Villalba B. Comparación de métodos para la detección de BLEE en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* aisladas en el Hospital Posadas Misiones. Reseña de Infectología y Vacunas 2002;11(2):18-23.
15. Galas M, Rapoport M, Pasterán F, Melano R, Petroni A, Ceriana P, WHONET Argentina collaborative group, and Rossi A. High distribution of CTX-M-2 β-lactamase among *Klebsiella* spp. isolated in Argentinean extended spectrum β-lactamase (ESBLA) surveillance program. 39th Intersc Conf Antimicrob Agents Chemother 1999. Abstract 149 C2, p 165, San Francisco, Estados Unidos de América.
16. Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez Martínez L, Grupo de estudio de Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). Enferm Infecc Microbiol Clin 2003;21:77-82.
17. Rangel Fausto SM, Morales García D, Báez Martínez R, Ibarra Blancas J, Ponce de León Rosales S. Validación de un programa de vigilancia de infecciones nosocomiales. Salud Publica Mex 1999;41(Supl):59-63.
18. Casellas JM, Goldberg M, Morosini MI, Negri MC, Arduino S, Catalano M, et al. Estudio sobre cepas productoras de betalactamasas plasmídicas de espectro extendido en Argentina. Infectol Microbiol Clin 1990;2:14-26.
19. Yuan M, Aucken H, Hall MCL, Pitt TL, Livermore DM. Epidemiological typing of *Klebsiellae* with extended-spectrum β-lactamases from European intensive care units. J Antimicrob Chemother 1998;41:527-39.