



# ARTÍCULOS ORIGINALES

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN CEPAS DE ESCHERICHIA COLI CAUSANTES DE INFECCIÓN URINARIA EN PACIENTES IMMUNOCROMPROMETIDOS

### MOLECULAR CHARACTERIZATION OF EXTENDED-SPECTRUM $\beta$ -LACTAMASES IN STRAINS OF ESCHERICHIA COLI CAUSING URINARY INFECTION IN IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS

Pereyra Marcia<sup>1</sup>, Ruiz Rosario<sup>2</sup>, Baez John<sup>3</sup>, Valenzuela Nicomedes<sup>3</sup>, Araya Jorge<sup>4</sup>, Silva Juan<sup>5</sup>, Cartagena Reynaldo<sup>6</sup>

RECIBIDO: 12/03/19

ACEPTADO: 19/09/19

#### RESUMEN

**Introducción.** La Infección del Tracto Urinario (ITU) es la infección bacteriana que más se diagnostica en el mundo y su agente causal más frecuente es Escherichia coli (E. coli), bacteria que ha adquirido importancia por su capacidad de producir betalactamasa de espectro extendido (BLEE), lo cual dificulta su tratamiento y hace más frecuentes las infecciones recurrentes y recidivantes incluyendo sus complicaciones, sobretodo en pacientes inmunocomprometidos.

**Objetivo.** Identificar pacientes con ITU producidas por E. coli productoras de BLEE y evaluar su espectro antibacteriano y molecular.

**Material y métodos.** Estudio longitudinal y prospectivo realizado con muestras urinarias de 53 pacientes de la Caja Nacional de Salud en La Paz-Bolivia. Se aisló como agente causal a E. coli en el 72% de las muestras, de estas, 35 presentaron fenotipo BLEE sensibles a imipenem, gentamicina y nitrofurantoina (100%) y amikacina (94%). Los ensayos de fenotipificación reportaron predominio del tipo

1. Médico Cirujano, Magister en Ciencias Biomédicas. Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta-Chile.
2. Médico especialista en Medicina Interna y Dietética Clínica. Hospital Materno Infantil, Caja Nacional de Salud. La Paz-Bolivia.
3. Tecnólogo Médico, Magister en Ciencias Biomédicas. Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta-Chile.
4. Tecnólogo Médico, Doctor en Ciencias, Doctor en Microbiología Molecular. Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta-Chile.
5. Tecnólogo Médico, Ph. D. Microbiología. Departamento de Tecnología Médica, Universidad de Antofagasta-Chile.
6. Bioquímico. Post grado en Bacteriología. Laboratorios Ciencia y Medicina. La Paz-Bolivia

**Correspondencia:** Rosario Ruiz Domínguez, Teléfonos: 72557017 - 2228290

Email: romarudo@yahoo.es

Trabajo realizado con muestras urinarias obtenidas de los departamentos de Hematología, Oncología, Neurología y Unidad de Terapia Intensiva de Adultos del Hospital Materno Infantil y de la Caja Nacional de Salud, y procesadas en los laboratorios de Ciencia y Medicina en La Paz-Bolivia y Departamento de Tecnología Médica de la Universidad de Antofagasta-Chile.

PhP-2 y los filogenéticos (PCR y secuenciación) identificaron predominio de bla<sub>CTX-M-15</sub> asociada a bla<sub>TEM-1</sub>.

**Conclusión.** Los fármacos de primera línea para el tratamiento de la ITU no son adecuados, haciendo a los pacientes más susceptibles a infecciones recurrentes y recidivantes. Se deben identificar precozmente y tratar eficazmente las ITU producidas por cepas de *E. coli* productoras de BLEE.

**Palabras clave:** Infección del tracto urinario, *Escherichia coli* productora de BLEE, Caracterización molecular y antibacteriana.

## ABSTRACT

**Introduction.** *Urinary tract infection (UTI) is the most common diagnosed bacterial infection in the world and its most frequent causal agent is the Escherichia coli (E. coli), a bacterium that has gained importance due to its ability to produce extended-spectrum beta-lactamase (ESBL), which makes treatment difficult and leads to more frequent recurrent infections including their complications, and even more in immunocompromised patients.*

**Objective.** *To identify patients with UTI caused by ESBL-producing E. coli and evaluate their antibacterial and molecular spectrum.*

**Material and methods.** *A longitudinal and prospective study performed with urinary samples from 53 patients of Caja Nacional de Salud in La Paz, Bolivia. In 72% of the samples, E. coli was isolated as a causative agent, of these, 35 had ESBL phenotype, sensitive to imipenem, gentamicin and nitrofurantoin (100%) and amikacin (94%). Phenotyping assays reported a predominance of PhP-2 type and phylogenetic assays (PCR and sequencing) identified a predominance of bla<sub>CTX-M-15</sub> associated with bla<sub>TEM-1</sub>.*

**Conclusion.** *Early recognition and effective treatment of UTI produced by multiresistant ESBL-producing strains of E. coli should be recognized based on the evidence obtained.*

**Key words:** *Urinary tract infection, ESBL-producing Escherichia coli, Molecular and antibacterial characterization.*

## Introducción

La infección del tracto urinario (ITU) es la infección bacteriana que más frecuentemente se diagnostica en el mundo; es común en mujeres jóvenes sexualmente activas, pero también está presente en pacientes mayores de ambos sexos<sup>(1-4)</sup>. *Escherichia Coli* (*E. Coli*) es el agente causal del 90% de estas infecciones y son menos frecuentes *Klebsiella*, *Proteus mirabilis* y *Staphylococcus saprophyticus*<sup>(5-12)</sup>. No es una enfermedad de notificación obligatoria, por lo cual su incidencia es desconocida en nuestro país.

El tratamiento de la ITU se ha hecho complejo debido a que la prevalencia de uropatógenos multiresistentes se ha incrementado tanto en las infecciones adquiridas como en las

nosocomiales<sup>(13-18)</sup>, más si refiere a pacientes con comorbilidades o situaciones debilitantes que ocasionan inmunodeficiencia<sup>(19)</sup>.

Actualmente, el estudio de los mecanismos de resistencia que presentan las bacterias a los antibióticos ha adquirido gran importancia; entre estos mecanismos, se destaca la producción de β-lactamasas, enzimas que inactivan a los antibióticos betalactámicos por hidrolización<sup>(18, 19-26)</sup>; y más aún, existe gran preocupación por las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) que han sido descritas en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp<sup>(17-25, 27-32)</sup>.

La infección urinaria producida por *E. coli* productora de BLEE constituye una entidad clínica grave, que al igual que otras infecciones causadas por

microorganismos multirresistentes a los antibióticos<sup>(30-42)</sup>, supone una complicación en el momento de instaurar un tratamiento antibiótico correcto tanto para evitar recidivas y recurrencias de la infección<sup>(19, 26-29, 39-44)</sup> como para evitar las complicaciones y la diseminación de las bacterias productoras de BLEE<sup>(40, 44, 45-55)</sup>.

El presente estudio se realizó con el objetivo de identificar pacientes inmunocomprometidos con ITU producidas por *E. coli* productoras de BLEE y evaluar el espectro antibacteriano y molecular de estas, para tratar de forma efectiva las infecciones recurrentes y recidivantes en pacientes de la ciudad de La Paz-Bolivia.

### Material y Métodos:

Se llevó a cabo un estudio longitudinal y prospectivo realizado con muestras urinarias de 53 pacientes con ITU atendidos entre enero y diciembre del año 2016.

Se tomó datos de las historias clínicas que fueron transcritos a una base de datos en Excel. Se obtuvo muestras de orina de 53 pacientes, en condiciones asépticas por método del chorro medio. Las muestras fueron homogeneizadas y sembradas en placas con agar Mac Conkey; para su aislamiento, se seleccionaron las colonias lactosa positiva y se inocularon en tubos preparados con pruebas bioquímicas estandarizadas: Indol, Triple Sugar Iron (TSI), Lysine Iron Agar (LIA), citrato de Simmons, producción de ureasa y Movilidad Indol Ornitina (MIO) para su identificación como *E. coli*.

Para determinar la susceptibilidad a los antibióticos, se realizó la técnica de difusión por discos, siguiendo los lineamientos de Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Los antibióticos que se utilizaron fueron: ácido nalidíxico [30µg], amikacina [30µg], ampicilina [10µg], ampicilina-sulbactam [10/10µg], aztreonam [30µg], cefotaxima [30µg],

ceftazidima [30µg], cefadroxiilo [30µg], cefuroxima [30µg], ciprofloxacino [5µg], cloranfenicol [30µg], gentamicina [10µg], gentamicina de alta carga [120µg], kanamicina [30µg], imipenem [10µg], nitrofurantoina [300µg], norfloxacino [10µg], piperacilina [100µg], piperacilina/tazobactam [100/10µg], tetraciclina [30µg], trimetoprim/sulfametoxazol [25µg] (Oxoid, Basingstoke, UK).

La presencia fenotípica de BLEE en las cepas de *E. coli* se estudió por la técnica del doble disco de la CLSI. En estos ensayos, se utilizó como control BLEE negativo la cepa de *E. coli* ATCC 25922 y como control BLEE positivo la cepa de *K. pneumoniae* ATCC 700603.

La identificación de los genes *bla*<sub>BLEE</sub> se realizó por técnica de PCR y secuenciación.

La identificación de los fenotipos bioquímicos (biochemical fingerprinting) se realizó por la técnica de Phene Plate™ (PhP).

La caracterización de los genotipos prevalentes de las cepas de *E. coli* productoras de BLEE se realizó mediante la técnica de electroforesis de campo pulsado (PFGE), utilizando un equipo CHEF-DRIII (BioRad).

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando Statgraphics Centurion XVI, Versión 16.1.15 versión 3.02, Stat Point Technologies, Inc, Warrenton, Virginia.

### Resultados:

Durante el período de estudio, se incluyó un total de 53 pacientes ingresados al hospital, con diferentes comorbilidades (Cuadro N° 1).

Se identificó *E. coli* como agente etiológico de ITU en el 72% de los casos (Figura N° 1).

De todas las cepas de *E. coli* aisladas, 35 cepas presentaron fenotipo BLEE con altos niveles de resistencia a CTX (97%) y a CAZ (66%); cepas altamente sensibles a imipenem y gentamicina (100%), Amikacina (94%), nitrofurantoina (80%), y a cloranfenicol (63%).

**Cuadro N° 1**  
**Características de pacientes con ITU por E. Coli**  
**BLEE positivas**

Características	Número (n)	Porcentaje (%)
<b>Comorbilidades</b>		
<b>Neoplasias</b>		
*LNH	8	15,1
**MM	6	11,3
^CACU	12	22,6
^^CACO	3	5,7
'CAP	6	11,3
*VIH/SIDA	4	7,6
**AVC	9	17,0
^HBP	5	9,4
Total	53	100
<b>Edad (Años)</b>		
≤ 20	1	1,9
21 a 40	16	30,2
41 a 60	17	32,1
≥ 61	19	35,8
<b>Género</b>		
Femenino	29	54,7
Masculino	24	45,3

\*LNH, Linfoma No Hodgkin

\*\*MM, Mieloma Múltiple

^CACU, Cáncer de Cuello Uterino

^^CACO, Cáncer de Colon

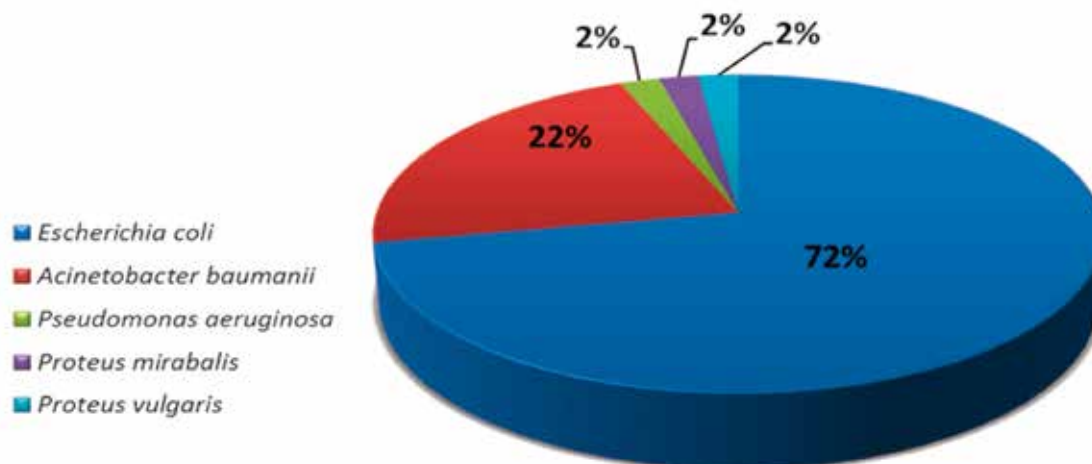
'CAP, Cáncer de Próstata

\*VIH/SIDA, Virus Inmunodeficiencia Humana/Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

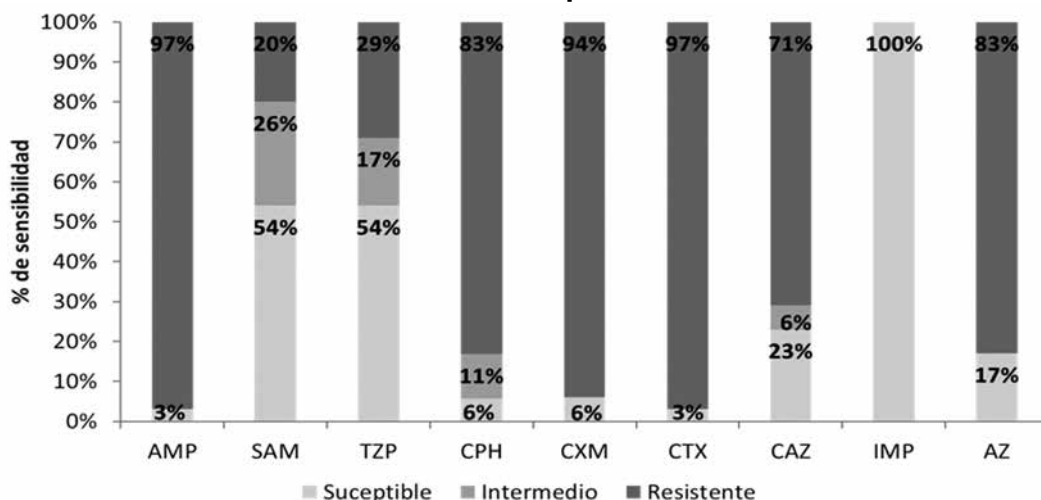
\*\*AVC, Accidente Vascular Cerebral

^HBP, Hipertrofia Benigna de Próstata

**Figura N° 1**  
**Características bacteriológicas**

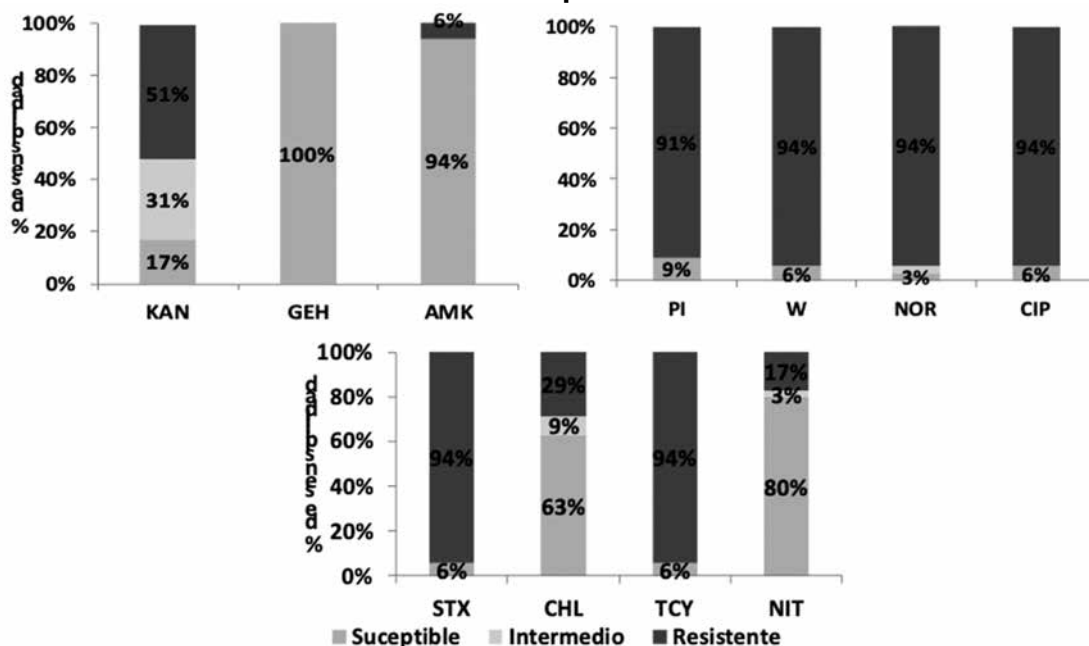


**Figura N° 2**  
**Porcentajes de la susceptibilidad a antibióticos betalactámicos de cepas de E. coli aisladas de los pacientes con ITU**



Ampicilina AMP, ampicilina/ác. clavulánico SAM, piperacilina/tazobactam TZP, Cefadroxilo CPH, cefoxima CXM, cefotaxima CTX, ceftazidima CAZ, imipenem IMP, aztreonam AZ.

**Figura N° 3**  
**Porcentajes de sensibilidad a antibióticos no betalactámicos de cepas de E. coli aisladas de los pacientes con ITU**



Kanamicina KAN, gentamicina de alta carga GEH (120µg), amikacina AMK, Ác. pipimídico PI, ác. nalidixico W, ciprofloxacino CIP, norfloxacino NOR, trimetoprim/sulfametoxazol SXT, cloranfenicol CHL, tetraciclina TCY, nitrofurantoína NIT.

Los ensayos de fenotipificación reportaron 12 fenotipos diferentes con predominio del tipo PhP-2 (31,6%), PhP-1 (15,8%), ambos con una divergencia menor 1%, sugerente de un mismo

clon de infección intra-hospitalaria (IIH) y los PhP-S (47,4%) indican clones de circulación en la comunidad.

Los análisis moleculares con PCR y secuenciación permitieron identificar

la presencia de *bla*<sub>CTX-M-15</sub> (74,3%), *bla*<sub>CTX-M-79</sub> (6,1%), *bla*<sub>CTX-M-28</sub> (2,6%) y *bla*<sub>TEM-1</sub> (17%).

El análisis filogenético mostro que los genes caracterizados son similares y

se encuentran agrupados en el 99% de 500 repeticiones en el Cluter del grupo CTX-M-1; por lo tanto, los genes caracterizados contienen sitios de aminoácidos conservados para la BLEE de tipo CTX-M-1.

**Cuadro N° 2**  
**Patrón de resistencia de aislamientos bacterianos de cepas de E. coli productoras de BLEE aisladas de pacientes con ITU**

Cepa ECB	Patrón de Resistencia (PR)	Nº	Código PR
50	AM CPH CXM CTX CAZ AZ PI W CIP NOR SXT TCY <b>KAN AMK CHL</b>	15	PR-10
43,37	AM CPH CXM CTX CAZ AZ PI W CIP NOR SXT TCY <b>KAN CHL NIT</b>	15	PR-2
22,34,35	AM CPH CXM CTX CAZ AZ PI W CIP NOR SXT TCY <b>NIT</b>	13	PR-9
27,32	AM CPH CXM CTX CAZ AZ PI W CIP NOR SXT TCY <b>KAN NIT</b>	14	PR-4
39,40,44,4838,46	AM CPH CXM CTX CAZ AZ PI W CIP NOR SXT TCY <b>KAN CHL</b>	14	PR-3
7,3,6,89,47,31,49	AM CPH CXM CTX CAZ AZ PI W CIP NOR SXT TCY <b>KAN</b>	13	PR-8
24,19,53,51	AM CPH CXM CTX CAZ AZ PI W CIP NOR SXT TCY	12	PR-11
25	AM CPH CXM CTX AZ PI W CIP NOR SXT TCY KAN AMK	13	PR-7
52	AM CPH CXM CTX CAZ PI W CIP NOR SXT TCY KAN CHL	13	PR-6
41	AM CPH CXM CTX CAZ AZ W CIP NOR SXT TCY KAN CHL	13	PR-5
11	AM CPH CXM CTX PI W CIP NOR KAN SXT CHL TCY	12	PR-12
5	AM CPH CXM CTX CAZ AZ PI W CIP NOR SXT	11	PR-13
42	AM CPH CXM CTX PI W CIP NOR KAN SXT TCY	11	PR-1
16	AM CTX CAZ PI W CIP NOR KAN SXT TCY	10	PR-14
4	CPH CTX CAZ	3	PR-16
28	AM CXM CAZ NOR KAN CHL TCY	7	PR-15

## DISCUSIÓN

En nuestro estudio, encontramos cepas de *E. coli* multirresistentes y productoras de BLEE en el 72% de los casos; este evento, puede haberse producido por el uso excesivo de antibióticos, lo cual habría favorecido la supervivencia de las cepas productoras de BLEE más adaptadas, en un ejemplo del modelo darwiniano como sugieren algunos autores (9, 23, 48, 54). Sin embargo, otros estudios sugieren que otro de los factores de mayor riesgo para adquirir la infección por cepas BLEE, lo constituyen los pacientes que presentan otras enfermedades subyacentes e inmunodebilitantes (9, 19), principalmente neoplasias (19, 47), asociados a las múltiples y frecuentes terapias antibióticas recibidas durante sus internaciones.

Se identificó molecularmente el gen que transcribía la producción de BLEE, en el 100% de las cepas de *E. coli* *bla*<sub>CTX-M</sub> específicamente el gen *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, que transcribe la BLEE tipo CTX-M-15,

la enzima de mayor prevalencia actualmente con una gran distribución a nivel mundial. En Bolivia, se describió en el 2007 en muestras de heces de niños sanos (46).

La caracterización molecular también permitió determinar que dos cepas además de presentar el gen de *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, tienen asociadas otro gen BLEE de importancia clínica *bla*<sub>TEM-1</sub> en el 25% de los casos, estos están aumentando en el mundo y se asocian con multirresistencia e infecciones más graves (51).

Los resultados de este estudio determinan que los fármacos registrados como de primera línea para el tratamiento de la ITU no son adecuados, haciendo a los pacientes más susceptibles a infecciones recurrentes y recidivantes, además de complicaciones graves como urosepsis y shock, lo cual en un futuro obliga a iniciar terapias mucho más agresivas, haciendo a los carbapenémicos y aminoglicosidos terapias de primera línea.



Es indispensable comprender la gravedad que implican nuestras conclusiones, se debe identificar precozmente y tratar eficazmente las ITU producidas por cepas bacterianas productoras de BLEE multirresistentes en pacientes inmuno y no inmunocomprometidos, y se debe vigilar de forma sistemática y prospectiva las unidades hospitalarias que se encargan del tratamiento de infecciones en

pacientes inmunocomprometidos, esto para identificar y estudiar los pacientes infectados por estas bacterias y evitar su propagación dentro de nosocomios y en la comunidad. Consideramos que nuestros resultados pueden proporcionar información útil para fines clínicos tanto en nuestra institución como en otros centros nacionales y del exterior.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. López Cerero L y Pascual A. *Epidemiología de las BLEE en la comunidad: un problema emergente. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007; 25 Supl. 2:23-28.*
2. Alanis AJ. *Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?. Arch Med Res. 2005;36:697-705.*
3. Balows A, Hausler W, Herrmann K y cols. *Manual of clinical microbiology. 5 ed. Washington, D.C: American Society for Microbiology; 1991.*
4. Eshwarappa M, Dosegowda R, Vrithmani ly cols. *Clinico-microbiological profile of urinary tract infection in south India Indian J Nephrol. 2011;21(1): 30-36.*
5. Foxman B. *The epidemiology of urinary tract infection. Nat Rev Urol. 2010;7, 653-660.*
6. Stamm W. In: *Fauci A, Buanwald E, Kasper D, eds. Medicina interna de Harrison. 17 ed. China;2008:1820.*
7. Bahadin J, Teo SS, Mathew S. *Aetiology of community-acquired arinary tract infection and antimicrobial susceptibility patterns of uropathogens isolated. Singapore Med J 2011; 52 (6): 415-20.*
8. Arjunan M, Al-Salamah AA, Amuthan M. *Prevalence and antibiotics susceptibility of uropathogens in patients from a rural environment. Tamilnadu. Am J Infect Dis.2010;6:29-33.*
9. Cantón R. *Prevalence and spread of extended-spectrum betalactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect. 2008;14 (Suppl 1):S144-S153*
10. CLSI: M02-A11. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard-Eleventh edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012*
11. Datta N, Kontomichalou P. *Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. Nature.1965;208:239-241.*
12. Diestra K, Coque TM, Miró E y cols. *Red Española de investigación en Patología Infecciosa. Caracterización 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.*
13. Hryniewicz K, Szczypa K, Sulikowska A y cols. *Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from urinary tract. J Antimicrob Chemother. 2001;47:773-780.*
14. Kang C, Song J, Chung Dy cols. *Risk factors and treatment outcomes of community-onset bacteraemia caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli. Int J Antimicrob Agents. 2010;36:284-287.*
15. Kang C, Wi Y, Young M y cols. *Epidemiology and risk factors of community onset infections caused by extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase-producing Escherichia coli strains. J Clin Microbiol. 2012;50(2):312-317.*
16. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. *Pathogenic Escherichia coli. Nature. 2004;2:123-140.*
17. Leal AL, Cortés JA, Arias G y cols. *Emergence of resistance to third generation cephalosporins by Enterobacteriaceae causing community-onset urinary tract infections in hospitals in Colombia. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2013;31:298-303.*
18. Paterson DL, Bonomo RA. *Extended-spectrum B-lactamases: a Clinical Update. J Clin Microbiol Rev. 2005;18:657-686.*
19. Ballou M. *Primary immunodeficiency diseases. In: Goldman L, Schafer AI, eds. Cecil Medicine. 24 ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2011. cap 258.*
20. 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.*

21. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004;48(1):1-14.
22. Bush K. Alarming beta-lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Microbiol*. 2010a;13:558-564.
23. Cantón R, Coque TM. The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Curr. Opin. Microbiol*. 2006;9:466-475.
24. Jacoby G, Muñoz S. The new  $\beta$ -lactamases. *N Engl J Med*. 2005;352:380-391.
25. Kühn I, Möllby R. The PhP RS system. A simple microplate method for studying coliform bacterial populations. *J Microbiol Meth*. 1993;17:255-9.
26. Kühn I. Biochemical fingerprinting of *Escherichia coli*: a simple method for epidemiological investigations. *J Microbiol Meth*. 1985;3:159-170.
27. Landgren M, Odén H, Kühn I y cols. Diversity among 2481 *Escherichia coli* from women with community-acquired lower urinary tract infections in 17 countries. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55(6):928-937.
28. Boyd DA, Tyler S, Christianson S y cols. Complete nucleotide sequence of a 92-kilobase plasmid harboring the CTX-M-15 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase involved in an outbreak in long-term-care facilities in Toronto, Canada. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:3758-3764.
29. Bush K, Jacoby G, Medeiros A. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39:1211-1233.
30. CLSI: M100-S19. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteenth informational supplement. Wayne, Pennsylvania: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteenth informational supplement M100-S19. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2009.
31. Huang ZM, Mao PH, Chen Y y cols. Study on the molecular epidemiology of SHV type beta-lactamase-encoding genes of multiple-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2004;25:425-427.
32. Johnson JR, Johnston B, Clabots C y cols. *Escherichia coli* sequence type ST131 as the major cause of serious multidrug-resistant *E. coli* infections in the United States. *Clin Infect Dis*. 2010;51:286-294.
33. Johnson JR, Menard M, Johnston B, y cols. Epidemic clonal groups of *Escherichia coli* as a cause of antimicrobial-resistant urinary tract infections in Canada, 2002 to 2004. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53: 2733-2739.
34. Jones GL, Warren RE, Skidmore SJ y cols. Prevalence and distribution of plasmid-mediated quinolone resistance genes in clinical isolates of *Escherichia coli* lacking extended-spectrum beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62:1245-1251.
35. Karim A, Poirel L, Nagarajan S y cols. Plasmid-mediated extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence ISEcp1. *FEMS Microbiol Lett*. 2001;201:237-241.
36. Kaufmann, M. E. 1998. Pulsed-field-electrophoresis, p. 33-50. In N. Woodford and A. P. Johnson (ed.), *Molecular bacteriology. Protocols and clinical applications*.
37. Kim MH, Lee HJ, Park KS y cols. Molecular characteristics of extended spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and the prevalence of *qnr* in Extended spectrum beta-lactamase isolates in a tertiary care hospital in Korea. *Yonsei Med J*. 2010;51:768-774.
38. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB y cols. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis*. 2001;32:1162-1171.
39. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, y cols. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother*. 2007;59:165-74.
40. Mabilat, C., y S. Goussard. 1995. PCR detection and identification of genes for extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, p. 553-557. In D. H.
41. Mangeney N, Niel P, Paul G y cols. A 5-year epidemiological study of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a medium- and long-stay neurological unit. *J Appl Microbiol*. 2000;88:504-511.
42. Mihaila L, Wyplosz B, Clermont O y cols. Probable intrafamily transmission of a highly virulent CTXM-3-producing *Escherichia coli* belonging to the emerging phylogenetic subgroup D2 O102-ST405 clone. *J Antimicrob Chemother*. 2010;6:1537-1539.
43. Mushtaq S, Woodford N, Potz N y cols. Detection of CTX-M-15 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52:528-529.
44. Naseer T, Sundsfjord A. El enigma CTX-M: la difusión de los plásmidos y los clones de *Escherichia coli*. *Microb Drogas Resist*. 2011 Mar;17(1):83-97.
45. Nicolas-Chanoine MH, Jarlier V, Robert J y cols. Patient's origin and lifestyle associated with CTX-M-producing *Escherichia coli*: a case-control-control study. *PLoS One*. 2012;7:e30498.



46. Pallecchi L, Bartoloni A, Fiorelli C y cols. Rapid dissemination and diversity of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes in commensal *Escherichia coli* isolates from healthy children from low-resource settings in Latin America. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007;51:2720-2725.
47. Peirano G, Asensi MD, Pitondo-Silva Ay cols. Molecular characteristics of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* from Rio de Janeiro, Brazil. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(7):1039-43.
48. Pitout JD, Gregson DB, Campbell L y cols. Molecular characteristics of extended-spectrum-beta-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;53:2846-2851.
49. Platell JL, Cobbold RN, Johnson JR y cols. Clonal group distribution of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* among humans and companion animals in Australia. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65: 1936-1938.
50. Press H, Totowa, NJ. Oihane Martín, Aránzazu Valverde, María I. Morosini, Mario Rodríguez-Domínguez, Mercedes Rodríguez-Baños, Teresa M. Coque, Rafael Cantón, Rosa del Campo Population Analysis and Epidemiological Features of Inhibitor-Resistant-TEM- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates from both Community and Hospital Settings in Madrid, Spain *J Clin Microbiol.* 2010 July; 48(7): 2368-2372.
51. Samaha-Kfoury JN, Araj GF. Recent developments in beta lactamases and extended spectrum beta lactamases. *BMJ.* 2003;327:1209-1213.
52. Sidjabat HE, Derrington P, Nimmo GR y cols. *Escherichia coli* ST131 producing CTX-M-15 in Australia. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65:1301-1303.
53. Totsika M, Beatson SA, Sarkar Sy cols. Insights into a Multidrug Resistant *Escherichia coli* Pathogen of the Globally Disseminated ST131 Lineage: Genome Analysis and Virulence Mechanisms. *PLoS ONE.* 2011;6(10):e26578
54. Yung UI, Wang JL, Chen WC y cols. Los factores de riesgo y los resultados de *Escherichia coli* bacteremia causada por cepas productoras de CTX-M o no-CTX-M prolongada beta-lactamasas de espectro extended. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011;30:33-39.
55. Van Der Donk C, Van De Bovenkamp J, De Brauwere E y cols., Antimicrobial Resistance and Spread of Multi Drug Resistant *Escherichia coli* Isolates Collected from Nine Urology Services in the Euregion Meuse-Rhine. *PLoS One.* 2012;7(10): e47707.