

Evolución y panorama actual de las BLEE

Rafael Cantón, Aránzazu Valverde, Ángela Novais, Fernando Baquero y Teresa Coque

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. España.

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), enzimas capaces de hidrolizar las cefalosporinas de amplio espectro y los monobactams, pero no las cefamicinas o los carbapenems, fueron detectadas por primera vez en Alemania en 1983, y en España a partir del año 1988. Suponen un modelo de evolución y un escalón más en el incremento de la resistencia a los antimicrobianos. A las enzimas inicialmente descritas de las familias SHV y TEM se han unido otras con mayor dispersión, las CTX-M, y otras con menor prevalencia (PER, BES, GES, IBC, BEL). La epidemiología de las BLEE ha tenido diferentes períodos desde su descripción, que incluyen epidemias, casos esporádicos, situaciones de alodemia (policlonalidad) y epidemias de elementos genéticos (plásmidos) asociados a ellas. La distribución actual de los microorganismos con BLEE y de estas enzimas varía de unas zonas geográficas a otras, aunque debido a un aumento en su dispersión asistimos a una situación pandémica. En general, se detectan mayoritariamente en *Escherichia coli*, sobre todo en pacientes con infecciones adquiridas en la comunidad, produciéndose un flujo de aislados desde este ambiente al medio hospitalario. El incremento de los microorganismos con BLEE atendería a un proceso multifactorial que incluiría tanto los elementos y estructuras genéticas asociadas a los genes *bla*_{BLEE} como a los microorganismos que las producen, sus resistencias asociadas y los procesos de coselección.

Palabras clave: Betalactamasas de espectro extendido. Infección adquirida en la comunidad. *Escherichia coli*.

Evolution and current situation of ESBL

Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), enzymes able to hydrolyze broad-spectrum cephalosporins and monobactams, but no cephamycins or carbapenems, were first identified in Germany in 1983 and in Spain in 1988.

These enzymes represent a model in the evolution of beta-lactamases and a step forward in the increase of antimicrobial resistance. The enzymes initially described belonged to the SHV and TEM families. Since then, other families with wider dispersion (CTX-M) or lower prevalence (PER, BES, GES, IBC, BEL) have been identified. The epidemiology of ESBLs has evidenced different periods since these enzymes were first described, which include epidemics, sporadic cases, allodemic situations (polyclonality) and epidemics of associated genetic elements (plasmids). The current distribution of ESBL-carrying microorganisms and that of these enzymes varies among geographical areas. However, because their dispersion has increased, the situation is currently pandemic. In general, ESBLs are mainly detected in *Escherichia coli*, especially in patients with community-acquired infections, thus producing a flow of isolates from the community to the hospital setting. The increase in ESBL-carrying microorganisms is probably due to a multifactorial process that could include elements and genetic structures associated with the *bla*_{BLEE} genes, as well as the microorganisms producing these enzymes, associated resistance, and processes of co-selection.

Key words: Extended-spectrum beta-lactamases. Community-acquired infections. *Escherichia coli*.

Introducción

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) se definen como enzimas capaces de hidrolizar las cefalosporinas de amplio espectro y los monobactams, pero no las cefamicinas o los carbapenems. Se caracterizan por ser inhibidas por los inhibidores de betalactamasas de clase A; sus determinantes genéticos se encuentran generalmente en plásmidos y derivan de otras betalactamasas con menor espectro hidrolítico^{1,2}. En la actualidad, esta definición es más compleja y también incluye enzimas que proceden de betalactamasas cromosómicas. La integración de los genes que las codifican en elementos móviles facilita su dispersión y expresión y les confiere un perfil hidrolítico similar al de las BLEE clásicas^{3,4}. En este trabajo revisaremos la evolución temporal de las BLEE y su epidemiología actual.

Correspondencia: Dr. R. Cantón.
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal.
Ctra. de Colmenar, Km. 9. 28034 Madrid. España.
Correo electrónico: rcanton.hrc@salud.madrid.org

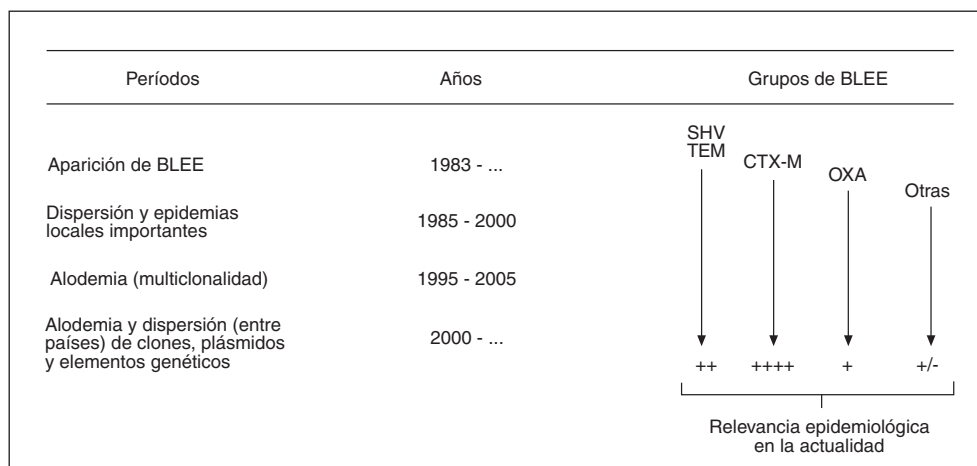


Figura 1. Descripción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), períodos en su evolución epidemiológica e importancia en la actualidad.

Clasificación, evolución temporal y peculiaridades epidemiológicas de las BLEE

Las BLEE pueden clasificarse en diferentes grupos o familias según su secuencia de aminoácidos. Su aparición se debe a su evolución a partir de betalactamasas de espectro reducido por eventos relacionados con mutaciones en los genes que las codifican o a la movilización de genes de betalactamasas cromosómicas y su integración en diferentes estructuras genéticas^{3,5,6}. En la figura 1 se indica el año en el que se describe por vez primera los distintos grupos de BLEE, los diferentes períodos que podrían considerarse en su evolución desde un punto de vista epidemiológico y su importancia actual.

Las primeras BLEE se describieron en Alemania en 1983 en diferentes aislados de enterobacterias que presentaban un fenotipo anormal que incluía resistencia a cefotaxima y ceftazidima, y que podían transferirse por conjugación⁷. En ellas se reconoció una variante de la betalactamasa SHV-1, a la que se denominó SHV-2 por presentar una mutación en la secuencia aminoacídica, que ampliaba el espectro hidrolítico de la anterior. En 1984 se aislaron en Francia cepas de *Klebsiella pneumoniae* con un fenotipo similar debido a una variante de la betalactamasa TEM-2, denominada inicialmente CTX-1, y posteriormente TEM-3, que incluía 2 mutaciones en su secuencia y, al igual que SHV-2, podía transferirse en los ensayos de conjugación⁸. Durante los años siguientes, se produjeron epidemias importantes causadas por este tipo de microorganismos, y se encontraron nuevas variantes enzimáticas en diferentes localizaciones geográficas, incluidas Sudamérica, Norteamérica y el Norte de África⁹. Fueron Philippon et al¹ en 1989 quienes, por primera vez, utilizaron el término BLEE para referirse a estas enzimas, que luego se incluyó en el grupo 2be de la clasificación funcional de Bush et al¹⁰. Tanto las BLEE de tipo TEM como las SHV están actualmente distribuidas por todo el mundo y se reconocen más de 160 y 100 variantes, respectivamente¹¹ (www.lahey.org/studies/webt.htm). Se han encontrado en la gran mayoría de las enterobac-

terias, esencialmente en *K. pneumoniae*, y más recientemente en *Pseudomonas aeruginosa* y en *Acinetobacter baumannii*¹².

En 1991 se aislaron en Ankara (Turquía) las primeras enzimas del grupo de las oxacilinasas (OXA) (grupo 2de) con un perfil superponible al de las BLEE pero con resistencia parcial a la inhibición por el ácido clavulánico y el resto de los inhibidores de clase A¹³. Derivan por mutación de la betalactamasa de amplio espectro OXA-10 y, a diferencia de las BLEE de tipo SHV y TEM, se han encontrado mayoritariamente en *P. aeruginosa* y con posterioridad en *A. baumannii*^{12,14}.

En la evolución temporal de las BLEE sorprende, con la perspectiva actual, que las BLEE más prevalentes en estos momentos sean las de la familia CTX-M. Fueron descritas durante la década de los años ochenta, apenas 3 años después de las BLEE de tipo TEM y SHV. En 1986, se aísla en Japón una cepa de *Escherichia coli* en las heces de un animal de laboratorio con elevada resistencia a cefotaxima y menor afectación de la ceftazidima y cuyo mecanismo se asoció a una betalactamasa que se denominó FEC-1¹⁵. En 1989, casi simultáneamente en Alemania y Argentina, y muy próximo en el tiempo en Francia, se aíslan enterobacterias con idéntico fenotipo. Las betalactamasas responsables se denominaron genéricamente CTX-M y se comprobó que no tenían relación alguna con las BLEE descritas hasta la fecha¹⁵⁻¹⁷. En la actualidad se conocen al menos 65 betalactamasas de tipo CTX-M agrupadas en torno a 5 enzimas diferentes según su secuencia de aminoácidos (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 y CTX-M-25) (www.lahey.org/studies/webt.htm). Cada uno de estos grupos está relacionado con betalactamasas cromosómicas de diferentes especies de *Kluyvera* que podrían haberse movilizado a través de secuencias de inserción (ISCR1, ISEcp1) o por bacteriófagos^{3,18}. Aparte de estos grupos o familias, que incluyen la mayoría de las BLEE, existen otras enzimas menos prevalentes no relacionadas con las anteriores y con peculiaridades de distribución geográfica o preferencia por diferentes microorganismos. En la tabla 1 se indican algunas de estas enzimas, la betalactamasa con la que se relacionan, el país y la fecha de aislamiento inicial de los microorganismos que las

TABLA 1. Diferentes grupos de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

BLEE	Betalactamasa relacionada	País de origen	Especies en las que se detectaron inicialmente	Referencia
Prevalencia elevada				
SHV	SHV-1/LEN	Alemania (1983) ^a	<i>Enterobacteriaceae</i>	7
TEM	TEM-1, -2	Francia (1985) ^a	<i>Enterobacteriaceae</i>	8
CTX-M	KLUA <i>Kluyvera</i> spp.	Japón (1986) ^b /Alemania (1989) ^b / Argentina (1989) ^b	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.	15-17
OXA	OXA-10 (PSE-2)	Turquía (1991) ^b	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
PER		Francia (1991) ^b	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
VEB	PER (39%) ^c	Francia (Vietnam) ^d (1996) ^b	<i>Escherichia coli</i>	21
Prevalencia baja				
SFO	AmpA <i>S. fonticola</i> (96%) ^c	Japón (1988) ^b	<i>Enterobacter cloacae</i>	23
TLA	CME-1 (50%) ^c	México (1991) ^b	<i>Escherichia coli</i>	24
BES	YENT (51%) ^c	Brasil (1996) ^b	<i>Serratia marcescens</i>	25
GES-1	YENT (36%) ^c	Francia (Guayana francesa) ^d (1998) ^b	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22
IBC	YENT (51%) ^c	Grecia (1999) ^b	<i>Enterobacter cloacae</i>	26
BEL	GES-1 (50%) ^c	Bélgica (2004) ^b	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27

^aFecha de publicación. ^bFecha de aislamiento. ^cPorcentaje de homología. ^dPaís de origen del paciente.

producían. Destacan el grupo de las enzimas PER (esencialmente en *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.), VEB y GES, también en *P. aeruginosa* y *Enterobacteriaceae*^{11,19-22}. Otras enzimas menos representadas son SFO, TLA, BEL, BES e IBC^{2,11,23-27}.

Hasta finales de los años noventa la mayoría de las BLEE detectadas pertenecía a las familias SHV y TEM, y las cepas que las producían se aislaban en brotes nosocomiales epidémicos. Su prevalencia, mayor en *K. pneumoniae* que en *E. coli*, era variable y dependía de posibles epidemias, y se encontraron grandes variaciones entre países, hospitales o unidades^{28,29}. Se aislaban con mayor frecuencia en las unidades de cuidados intensivos (UCI) y como factores de riesgo destacaban el ingreso en UCI, la cirugía reciente, el cateterismo, el sondaje urinario, la hospitalización prolongada y la utilización previa de cefalosporinas y aminoglucósidos^{11,30}. Sin embargo, este panorama ha cambiado y en la actualidad la mayoría de los aislados con BLEE expresa enzimas de tipo CTX-M, se reconocen con mayor frecuencia en *E. coli* que en el resto de las enterobacterias, incluida *K. pneumoniae*, y ha aumentado el número de aislados con BLEE en áreas hospitalarias diferentes de las UCI y de manera importante en los pacientes de la comunidad, esencialmente con infecciones urinarias³¹⁻³³. Los factores de riesgo parecen haberse modificado y otros grupos de antibióticos, entre los que encuentran las fluoroquinolonas, podrían estar desempeñando un papel relevante en su selección³². En general, los aislados que expresan las enzimas CTX-M no suelen ser epidémicos, aunque se ha reconocido una clara asociación con determinados tipos de plásmidos y elementos genéticos de transmisión³⁴⁻³⁷.

Distribución de las BLEE en España

Los primeros aislados con BLEE reconocidos en España se detectaron casi simultáneamente en dos hospitales de Madrid (Hospital Universitario Ramón y Cajal y Hospital Clínico) en 1988 y correspondían a cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* que producían la enzima SHV-2^{38,39}. Con posterioridad, diferentes estudios pusieron de manifiesto que la prevalencia de este tipo de aislados no era muy elevada

en nuestro país y que se ajustaba a modelos descritos en otras áreas geográficas. Se describieron epidemias importantes, como la que aconteció en el Hospital de Bellvitge entre los años 1993 y 1995, que afectó a 145 pacientes y se debió a una cepa de *K. pneumoniae* productora de SHV-5⁴⁰. También se detectaron epidemias en otros hospitales, en las que estuvieron implicados aislados de *Salmonella enterica* con TEM-27, *K. pneumoniae* con TEM-4 o con SHV-2, *Enterobacter aerogenes* con TEM-24 perteneciente a un clon epidémico, también detectado en otros países, y casos esporádicos relacionados con otras enzimas, entre ellas TEM-3, TEM-9, TEM-10, TEM-12, SHV-4 y SHV-6^{39,41-44}.

Los trabajos de seguimiento epidemiológico de todos los aislados con BLEE en una misma institución han puesto de manifiesto que el cambio epidemiológico en España se produjo a finales de los años noventa, sobre todo en el tipo de enzimas, los microorganismos que las producen y en el origen de los pacientes en los que se aislaban^{3,45}. Desde esos años se ha incrementado de manera importante el número de aislados con BLEE de tipo CTX-M, sobre todo en *E. coli*, se ha demostrado que no suelen asociarse a epidemias y que un número importante de los aislados con BLEE producen más de una enzima^{45,46}. La primera publicación en España en la que se hace referencia a estas enzimas se corresponde con cepas de *E. coli* y *Salmonella* spp. con CTX-M-9 detectadas entre 1996 y 2000 en Barcelona y Murcia^{47,48}. Asimismo, en 1997 se describe en Madrid, en el Hospital Universitario Ramón y Cajal, el aislamiento de *E. coli* con CTX-M-10⁴⁹, aunque el análisis retrospectivo de aislados con este tipo de enzimas en el mismo hospital confirma su presencia desde 1990 en *K. pneumoniae* y desde 1991 en *Enterobacter* spp. y en *Citrobacter freundii*^{43,50,51}. También, en un estudio prospectivo realizado en el Hospital Virgen Macarena de Sevilla, entre 1995 y 2003, se detectaron los primeros aislados de *K. pneumoniae* y *E. coli* con CTX-M en 1998 y 1999, respectivamente⁴⁵.

La incidencia de aislados con BLEE ha ido aumentando progresivamente. En un estudio realizado en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, entre 1994 y 1996, se observó que sólo un 0,2% de los aislados de *K. pneumoniae* y un 0,1% de *E. coli* presentaban BLEE, y

CTX-M-9, TEM-12 y SHV-2 fueron las enzimas identificadas⁵². Posteriormente, un amplio estudio multicéntrico realizado en España entre marzo y junio del año 2000, que incluía 40 hospitales distribuidos por todo el territorio nacional, mostró una prevalencia de cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* con BLEE del 2,7 y 0,5%, respectivamente, y la presencia de este tipo de aislados en el 90% de los centros que participaron en el estudio. Asimismo, la mayoría de las cepas de *K. pneumoniae* (93%) se detectaron en pacientes hospitalizados, mientras que el 51% de los aislados de *E. coli* procedían de pacientes extrahospitalarios⁵³. En este trabajo, las BLEE más prevalentes en *E. coli* fueron CTX-M-9 (27,3%), SHV-12 (23,9%) y CTX-M-14 (16,7%) y sólo un 4,5% presentaba CTX-M-10. En *K. pneumoniae*, CTX-M-10 (12,5%) fue la única BLEE de tipo CTX-M detectada en esta especie, y TEM-4 (25%) y TEM-3 (16,7%) fueron las más prevalentes. Es también destacable que CTX-M-9 y CTX-M-14 se encontraron en diferentes regiones, mientras que CTX-M-10 sólo se obtuvo en Madrid y en el norte de la península⁵⁴. Además, no se detectaron aislados epidémicos con enzimas de tipo CTX-M, lo que evidencia una situación alodémica (o policlonal)⁵⁵. Sin embargo, en estudios más reducidos se ha detectado la dispersión de clones epidémicos asociados a este tipo de enzimas, como en el caso de *E. coli*, con un único plásmido con el gen *bla*_{CTX-M-9} en las heces de niños que asistieron a un campamento de verano⁵⁶. Los datos preliminares de un nuevo estudio multicéntrico realizado en 2006 con idéntica metodología al anterior del año 2000 reflejan un incremento notable de la frecuencia global de cepas con BLEE, que fue del 6% en *E. coli* y el 8% en *K. pneumoniae* (A. Pascual, comunicación personal).

La elevada presencia de aislados con CTX-M-9 en España ha sido corroborada en estudios locales, tanto en pacientes hospitalizados como no hospitalizados, así como en estudios realizados en animales^{46-48,51,52,57-59}. Una situación análoga sucede con los aislados con CTX-M-14, que pertenece al grupo de la CTX-M-9^{3,45,60-62}. Se describió inicialmente en *E. coli* y *K. pneumoniae* en 2001 en pacientes extrahospitalarios en el norte de la península⁶³. También se ha detectado en *Salmonella* spp. y en cepas de *E. coli* en portadores fecales en humanos^{51,59}.

Como en otros países de nuestro entorno, en los últimos años se ha producido una explosión en la variedad de enzimas detectadas en España. Permanecen enzimas de las familias TEM y SHV detectadas con anterioridad y han aparecido nuevas enzimas, en particular del grupo de la CTX-M-1 (CTX-M-1, -3, -15, -28 y -32)^{3,35,37,46,58,64,65}. Muchas de estas enzimas tienen la particularidad de conferir un mayor grado de resistencia a ceftazidima que las de otros grupos de CTX-M y tienen una importancia epidemiológica creciente, aunque en menor medida que la publicada en otros países de nuestro entorno⁶⁶. En la Comunidad de Madrid se ha observado la dispersión de clones epidémicos de *E. coli* que expresan la BLEE CTX-M-15 en instituciones de pacientes crónicos y en residencias de la tercera edad³⁵.

A pesar de la estrecha relación de España con los países de Sudamérica en los que la betalactamasa CTX-M-2 es muy frecuente^{11,66}, esta enzima ha sido identificada muy excepcionalmente en nuestro país^{51,64,67}. Por el momento, no se han descrito en España aislados con enzimas de los grupos de la CTX-M-8 y de la CTX-M-25.

Distribución de las BLEE en Europa y en el resto del mundo

Los estudios de vigilancia epidemiológica realizados en Europa y en el resto del mundo evidencian una importante dispersión de las enterobacterias con BLEE. En Europa, los datos del estudio EARSS de 2005 demuestran que en, al menos, 5 países se ha producido un aumento espectacular de los aislados de *E. coli* con resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro, se han alcanzado cifras del 28% en Bulgaria, 16% en Chipre y Rumanía y 12% en Portugal⁶⁸. Asimismo, en el programa Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC), entre 1997 y 2004, se observó un aumento del número de aislados de *E. coli* (del 2,1 al 10,8%), *K. pneumoniae* (del 9,0 al 13,6%), y en menor medida en *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. y en *Proteus mirabilis* (inferiores al 4% en 2004) con BLEE⁶⁹. Esta situación contrasta con la ofrecida en los EE.UU., ya que incluso se observa una disminución en *E. coli* (del 5,1 al 1,4%) y *K. pneumoniae* (del 7,2 al 4,4%) y tan sólo se observa un aumento en *Enterobacter* spp. (alrededor del 5% en 2004)⁶⁹. Parte de estas observaciones también se recogen en otros programas de vigilancia como SENTRY o SMART.

En el estudio SENTRY, entre 1997 y 1999 se observó que existía un mayor número de aislados con BLEE de *K. pneumoniae* que de *P. mirabilis* y *E. coli*, y que la prevalencia era mayor en Europa que en los EE.UU. También se constató que las áreas con mayor frecuencia se correspondían con Sudamérica y Asia²⁸. Los datos más recientes de este programa de vigilancia confirman que en Europa un 1,3% de los aislados de *E. coli*, un 18,4% de *K. pneumoniae*, un 12,6% de *Klebsiella oxytoca* y un 5,3% de *P. mirabilis* son productores de estas enzimas⁷⁰. En la región Asia-Pacífico, entre 1998 y 2002 estas cifras eran mucho más elevadas. En *K. pneumoniae* su frecuencia fue del 35,6% en Singapur; 30,7% en China; 28,1% en Sudáfrica; 21,9% en Filipinas, y menor del 10% en Japón y Australia. Las cifras en *E. coli* fueron del 24,5% en China, el 14,3% en Hong Kong y el 11,3% en Singapur. Sorprende la elevada proporción de aislados de *K. oxytoca* con estas enzimas en Filipinas, Singapur y China (38,5-30,0%)⁷¹. Asimismo, en 2004 el estudio SMART, que recoge específicamente aislados de infecciones intraabdominales en el mundo, también ofreció datos alarmantes: el 10% de los aislados de *E. coli* en este tipo de infección eran productores de BLEE, el 17% en *Klebsiella* spp. y el 22% en *Enterobacter* spp., y habían aumentado ligeramente con respecto a los 2 años anteriores^{72,73}.

Los estudios multicéntricos realizados en diferentes países también corroboran los datos ofrecidos en España en lo referente al cambio epidemiológico: persiste el aislamiento de enzimas de tipo SHV y TEM y aumentan los aislados con CTX-M^{11,66}. Aunque los aislados con BLEE de otros grupos es mucho menor, éstas se detectan en mayor proporción en *P. aeruginosa* y *Acinetobacter*¹². Entre las BLEE más difundidas destaca SHV-12. Su distribución es mundial, aunque existen zonas en Asia donde es altamente prevalentes y se encuentra entre las enzimas más frecuentes⁷⁴⁻⁷⁷. Recientemente se han asociado elementos genéticos que confieren resistencia a quinolonas (*qnr*) y que podrían haber contribuido a su disper-

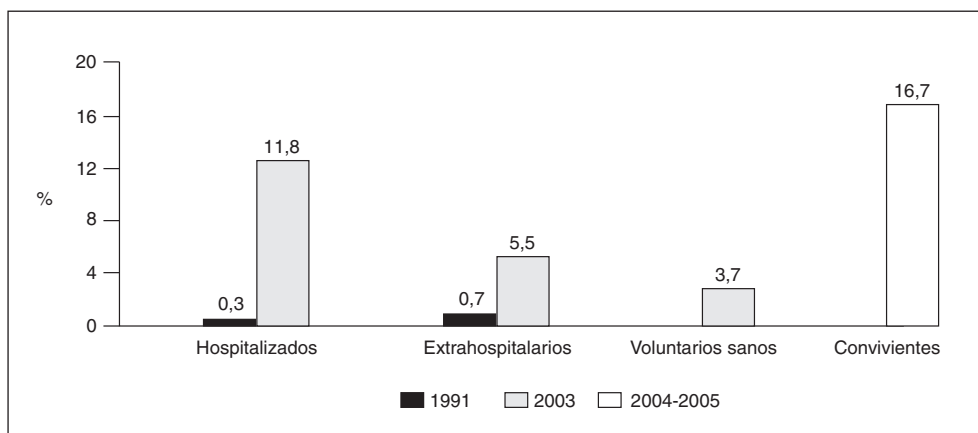


Figura 2. Frecuencia de portadores fecales en pacientes hospitalarios y no hospitalarios, en voluntarios sanos y en convivientes de pacientes con infección urinaria por microorganismos productores BLEE^{51,103} en Madrid.

sión⁷⁸. Con respecto a las BLEE de tipo TEM, también la enzima TEM-24 se ha aislado muy frecuentemente en diferentes países, en particular en Europa (Francia, Bélgica, España, Portugal e Italia), asociada a un clon epidémico de *E. aerogenes*^{43,44,79-83}. En Polonia, aunque no se ha aislado esta enzima, el seguimiento secuencial de los aislados con BLEE ha servido para trazar la evolución de las enzimas de tipo TEM⁸⁴, como se hizo en Taiwán con las de tipo SHV⁸⁵.

Los trabajos multicéntricos y los realizados en diferentes laboratorios han permitido reconocer que la epidemiología actual de las BLEE es compleja. Se han identificado situaciones que difieren en distintas áreas geográficas y reflejan una dispersión local y específica de algunas enzimas, mientras que en otras localizaciones no se han detectado por el momento. Como ejemplos destacaríamos la CTX-M-9, la CTX-M-14 o la CTX-M-2, cada una de ellas representadas mayoritariamente en lugares geográficos distintos, con escasas epidemias clonales pero con plásmidos relacionados cuando se considera un sola enzima^{2,11}. Como excepción, y de manera significativa, destaca la CTX-M-15. Se encuentra en casi todo el mundo y su incidencia ha aumentado rápidamente. Inicialmente detectada en la India en 2001, deriva de la betalactamasa CTX-M-3, y se diferencia de ellas en un solo cambio aminoacídico (Asp-240-Gly) que le confiere una mayor eficiencia hidrolítica sobre la ceftazidima⁸⁶. En este caso, y a diferencia de lo acontecido con otras enzimas CTX-M en las que se ha observado una clara situación de alodemia, su dispersión, tanto en la comunidad como en el medio hospitalario, se ha asociado a epidemias clonales y a plásmidos epidémicos en diferentes países, entre los que destacan Francia, Canadá, Italia, Portugal, Austria, Reino Unido y España. *E. coli* es la especie en la que se ha aislado con mayor frecuencia^{34,35,37,87-90}. En numerosas ocasiones se ha documentado su asociación con otros determinantes genéticos de resistencia, lo que le conferiría ventajas en los procesos de selección y diseminación. Entre éstos se encuentran *bla*_{OXA-1}, *qnr* y *aac(6)-Ib-c*^{87,91,92}.

BLEE. ¿Del hospital a la comunidad o de la comunidad al hospital?

Uno de los aspectos que más ha sorprendido en el panorama actual de las BLEE y los microorganismos que las producen ha sido su elevada incidencia en pacientes de la comunidad, incluso en los que no han tenido contacto previo con el medio hospitalario³³. Se ha sugerido que la invasión del compartimento extrahospitalario se debía a que estos microorganismos “escapaban” desde el hospital hacia la comunidad. Sin embargo, diferentes trabajos han puesto de manifiesto la situación contraria: se produce el “ingreso” de microorganismos con BLEE en el hospital, donde, debido a una mayor densidad de selección, se produciría un efecto de amplificación (selección)³³.

El aumento de aislados con BLEE en pacientes de la comunidad se ha puesto de manifiesto en numerosos estudios, incluidos los realizados en pacientes procedentes de residencias de la tercera edad^{32,35,57,93-99}. Algunos estudios han mostrado el elevado número de pacientes de la comunidad portadores de enterobacterias con BLEE y el incremento significativo de éstos en poco tiempo. Un estudio realizado en nuestro laboratorio describe el aumento espectacular del porcentaje de portadores: del 1% en 1991 al 6% en 2003 (fig. 2)⁵¹. Este incremento fue corroborado por otros estudios realizados en otras áreas de España. En Barcelona se demostraron cifras del 2,1% entre febrero y mayo de 2001, del 3,8% entre abril y junio de 2002 y del 7,5% en octubre de ese mismo año¹⁰⁰. Asimismo, en Zaragoza, el aumento fue del 2,5% en 2002 al 7,2% en 2004¹⁰¹. Pero quizá uno de los aspectos que más sorprende es que esta cifra es también significativa (cercana al 4%) en individuos sanos sin contacto con el ambiente hospitalario o tratamiento con antimicrobianos en los 3 meses anteriores al estudio⁵¹ (fig. 2).

En otros países como Israel, las cifras ofrecidas en pacientes ambulatorios son incluso superiores, y los pacientes que requieren hospitalización llegan casi al 11%³³. Esta cifra podría ser incluso superior en los pacientes procedentes de residencias geriátricas¹⁰² y en los convivien-

tes con pacientes extrahospitalarios con infecciones urinarias con enterobacterias con BLEE¹⁰³ (fig. 2). En los estudios en los que se ha realizado la identificación molecular de las BLEE, las enzimas detectadas en los portadores fecales son, en su mayoría, las mismas que las que se han detectado en los hospitales, lo que corrobora nuevamente que la entrada de este tipo de enzimas podría estar produciéndose desde la comunidad al hospital^{33,51}.

Factores que influyen en la distribución y dispersión de las BLEE

Las causas que han llevado a la situación actual de las BLEE se ha revisado con anterioridad, en particular para la familia de las CTX-M³, y también son tratadas en profundidad en otros artículos de esta monografía. El uso masivo de determinados grupos de antimicrobianos podría haber influido en su distribución y en las diferencias entre áreas geográficas o unidades en los hospitales. Este hecho se fundamenta, en parte, en las resistencias asociadas que suelen tener los microorganismos con BLEE y en los procesos de coselección derivados de estas políticas¹⁰⁴. Muchos de los genes causantes de las corresponsibilidades (*aad*, *aac*, *aph*, *dhfr*, *qnr*, *tet*) cotransfieren con los genes *bla*_{BLEE}.

Otro factor relacionado con la dispersión de estas enzimas y de los genes que las codifican sería su asociación con elementos genéticos que facilitan su integración y expresión, como *ISEcp1* e *ISCR1* para determinadas CTX-M e *IS26* para algunas BLEE de tipo SHV¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. También su integración en integrones (inusuales o ligados a *ISCR1*) y su asociación con secuencias de transposición (*Tn21-like*) habrían permitido su persistencia y movilidad a unidades genéticas de mayor complejidad^{19,36,108}. Estas últimas podrían haber influido en la integración de los genes *bla*_{BLEE}, como si de una muñeca rusa se tratase (unas dentro de otras)¹⁰⁹, en plásmidos ampliamente difundidos en las enterobacterias y habrían permitido una dispersión eficaz^{34,36}. En *E. coli* también se ha señalado la posible ventaja de distribución de BLEE en determinados ecovares o grupos filogenéticos y su asociación con determinados factores de virulencia que pudiesen conferir ventajas en su selección, diseminación y adaptación a diferentes ambientes^{3,110,111}.

Conclusiones

Las BLEE suponen un modelo en la evolución de las betalactamasas y un escalón más en el incremento de la resistencia a los antimicrobianos. A las enzimas inicialmente descritas de las familias SHV y TEM se han unido otras, las CTX-M, actualmente con mayor dispersión que las anteriores. La epidemiología de las BLEE ha tenido diferentes períodos desde su primera descripción, a principio de la década de los años ochenta, que incluyen epidemias, casos esporádicos y situaciones de alodemia. En la actualidad, la distribución tanto de los microorganismos productores de BLEE como de estas enzimas varía de unas áreas geográficas a otras, aunque debido a un aumento de su dispersión asistimos a una situación pandémica. En general, se detectan mayoritariamente en *E. coli*, sobre todo en pacientes con infecciones adquiridas en la comunidad, por

lo que se produce un flujo de aislados desde este ambiente al medio hospitalario. El incremento de los microorganismos con BLEE atendería a un proceso multifactorial que incluiría tanto los elementos y estructuras genéticas asociadas a los genes *bla*_{BLEE} como los microorganismos que las producen, sus resistencias asociadas y los procesos de coselección.

Agradecimientos

Los autores agradecen la concesión de diferentes proyectos relacionados con el conocimiento de este trabajo al Instituto Carlos III del Ministerio de Sanidad y Consumo (FIS PI020943, FIS PI040162, Red de Centros REIPI C03/14 REIPI), al Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF9285) y a la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid (08.2/0017/2000).

Bibliografía

1. Philippon A, Labia R, Jacoby G. Extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989;33:1131-6.
2. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. *N Engl J Med.* 2005;352:380-91.
3. Cantón R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol.* 2006;9:466-75.
4. Navarro F, Miró E. Update on CTX-M-type beta-lactamases. *Rev Med Microbiol.* 2002;13:63-73.
5. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:933-51.
6. Helfand MS, Bonomo RA. Beta-lactamases: a survey of protein diversity. *Curr Drug Targets Infect Disord.* 2003;3:9-23.
7. Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, ceftiofexim, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection.* 1983;11:315-7.
8. Sirot D, Sirot J, Labia R, Morand A, Courvalin P, Darfeuille-Michaud A, et al. Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother.* 1987;20:323-34.
9. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35:1697-704.
10. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39:1211-33.
11. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:657-86.
12. Livermore DM, Woodford N. The beta-lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends Microbiol.* 2006;14:413-20.
13. Hall LM, Livermore DM, Gur D, Akova M, Akalin HE. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37:1637-44.
14. Naas T, Nordmann P. OXA-type beta-lactamases. *Curr Pharm Des.* 1999;5:865-79.
15. Matsumoto Y, Ikeda F, Kamimura T, Yokota Y, Mine Y. Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyiminocephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 1988;32:1243-6.
16. Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S. A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection.* 1990;18:294-8.
17. Bauernfeind A, Casellas JM, Goldberg M, Holley M, Jungwirth R, Mangold P, et al. A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella typhimurium*. *Infection.* 1992;20:158-63.
18. Oliver A, Coque TM, Alonso D, Valverde A, Baquero F, Cantón R. CTX-M-10 linked to a phage-related element is widely disseminated among *Enterobacteriaceae* in a Spanish hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:1567-71.
19. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:2385-92.
20. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Dupont C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37:962-9.

21. Poirel L, Naas T, Guibert M, Chaibi EB, Labia R, Nordmann P. Molecular and biochemical characterization of VEB-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase encoded by an *Escherichia coli* integron gene. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:573-81.
22. Poirel L, Le Thomas I, Naas T, Karim A, Nordmann P. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:622-32.
23. Matsumoto Y, Inoue M. Characterization of SFO-1, a plasmid-mediated inducible class A beta-lactamase from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:307-13.
24. Silva J, Aguilar C, Ayala G, Estrada MA, Garza-Ramos U, Lara-Lemus R, et al. TLA-1: a new plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:997-1003.
25. Bonnet R, Sampaio JL, Chanal C, Sirot D, De Champs C, Viillard JL, et al. A novel class A extended-spectrum beta-lactamase (BES-1) in *Serratia marcescens* isolated in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44: 3061-8.
26. Giakkoupi P, Tzouveleakis LS, Tsakris A, Loukova V, Sofianou D, Tzelepi E. IBC-1, a novel integron-associated class A beta-lactamase with extended-spectrum properties produced by an *Enterobacter cloacae* clinical strain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:2247-53.
27. Poirel L, Brinas L, Verlinde A, Ide L, Nordmann P. BEL-1, a novel clavulanic acid-inhibited extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In120 in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:3743-8.
28. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis*. 2001;32 Suppl 2:94-103.
29. Babini GS, Livermore DM. Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997-1998. *J Antimicrob Chemother*. 2000;45:183-9.
30. Sirot D. Extended-spectrum plasmid-mediated beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 1995;36 Suppl A:19-34.
31. Pitout JD, Hanson ND, Church DL, Laupland KB. Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum beta-lactamases: importance of community isolates with *bla*_{CTX-M} genes. *Clin Infect Dis*. 2004;38:1736-41.
32. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, de Cueto M, Rios MJ, et al. Bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Infect Dis*. 2006;43:1407-14.
33. Ben-Ami R, Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Giladi M, Chmelnitsky I, et al. Influx of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* into the hospital. *Clin Infect Dis*. 2006;42:925-34.
34. Boyd DA, Tyler S, Christianson S, McGeer A, Muller MP, Willey BM, et al. 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;48:3758-64.
35. Oteo J, Navarro C, Cercenado E, Delgado-Iribarren A, Wilhelm I, Orden B, et al. Spread of *Escherichia coli* strains with high-level cefotaxime and ceftazidime resistance between the community, long-term care facilities, and hospital institutions. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2359-66.
36. Novais A, Cantón R, Valverde A, Machado E, Galan JC, Peixe L, et al. Dissemination and persistence of *bla*_{CTX-M-9} are linked to class 1 integrons containing CR1 associated with defective transposon derivatives from Tn402 located in early antibiotic resistance plasmids of IncHI2, IncP1-alpha, and IncFI groups. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:2741-50.
37. Novais A, Cantón R, Moreira R, Peixe L, Baquero F, Coque TM. Emergence and dissemination of *Enterobacteriaceae* isolates producing CTX-M-1-like enzymes in Spain are associated with IncFII (CTX-M-15) and broad-host-range (CTX-M-1, -3, and -32) plasmids. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:796-9.
38. Baquero F, Reguera JA, Ojeda M, Cantón R, Martínez JL, Martínez Beltrán J, et al. *Escherichia coli* con resistencia a cefalosporinas de 3a generación codificada por β-lactamasas de tipo plasmídico: primer brote en España. *Rev Esp Microbiol Clin*. 1988;3:581-2.
39. Fernández-Rodríguez A, Reguera JA, Pérez-Díaz JC, Picazo JJ, Baquero F. Primera epidemia española de resistencia plasmídica a cefalosporinas de tercera generación: implicación de SHV-2. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1992;10:456-61.
40. Peña C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallarés R, Liñares J, et al. Epidemiology and successful control of a large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42:53-8.
41. Morosini MI, Blazquez J, Negri MC, Cantón R, Loza E, Baquero F. Characterization of a nosocomial outbreak involving an epidemic plasmid encoding for TEM-27 in *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype Othmarschen. *J Infect Dis*. 1996;174:1015-20.
42. Colom K, Fernández-Aranguiz A, Alonso R, Suinaga E, Cisterna R. Emergence of resistance to beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae* species with group I beta-lactamases in Spain. *Microb Drug Resist*. 1996;2:353-9.
43. Cantón R, Oliver A, Coque TM, Varela MC, Pérez-Díaz JC, Baquero F. Epidemiology of extended spectrum β-lactamase-producing *enterobacter* isolates in a Spanish hospital during a twelve-year period. *J Clin Microbiol*. 2002;40:1237-43.
44. Salso S, Culebras E, Andrade R, Picazo JJ. Outbreak of TEM-24-producing *Enterobacter aerogenes* in a Spanish hospital. *Microb Drug Resist*. 2003; 9:299-305.
45. Romero L, López L, Rodríguez-Baño J, Ramón Hernández J, Martínez-Martínez L, Pascual A. Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect*. 2005;11:625-31.
46. Valverde-Romero E, García-García MI, Parras-Padilla T, Herrero-Hernández A, Fernández-Vázquez M, Pérez-Grande R, et al. Epidemiology of CTX-M β-lactamases in Spain. *Clin Microbiol Infect*. 2005;11 Suppl 2:117.
47. Sabaté M, Tarragó R, Navarro F, Miró E, Vergés C, Barbé J, et al. Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime-hydrolyzing beta-lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:1970-3.
48. Simarro E, Navarro F, Ruiz J, Miró E, Gómez J, Mirelis B. *Salmonella enterica* serovar Virchow with CTX-M-like beta-lactamase in Spain. *J Clin Microbiol*. 2000;38:4676-8.
49. Oliver A, Pérez-Díaz JC, Coque MT, Baquero F, Cantón R. Nucleotide sequence and characterization of a novel cefotaxime-hydrolyzing β-lactamase (CTX-M-10) isolated in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45:616-20.
50. Coque TM, Oliver A, Pérez-Díaz JC, Baquero F, Cantón R. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum β-lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989-2000). *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:500-10.
51. Valverde A, Coque TM, Sánchez-Moreno MP, Rollan A, Baquero F, Cantón R. Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during nonoutbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol*. 2004;42:4769-75.
52. Sabaté M, Miró E, Navarro F, Vergés C, Aliaga R, Mirelis B, et al. Beta-lactamases involved in resistance to broad-spectrum cephalosporins in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. clinical isolates collected between 1994 and 1996, in Barcelona (Spain). *J Antimicrob Chemother*. 2002; 49:989-97.
53. 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.
54. Hernández JR, Martínez-Martínez L, Cantón R, Coque TM, Pascual A; Spanish Group for Nosocomial Infections (GEIH). Nationwide study of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:2122-5.
55. Baquero F, Coque TM, Cantón R. Allodemics. *Lancet Infect Dis*. 2002;2: 591-2.
56. Prats G, Mirelis B, Miró E, Navarro F, Llovet T, Johnson JR, et al. Cephalosporin-resistant *Escherichia coli* among summer camp attendees with salmonellosis. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:1273-80.
57. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in non-hospitalized patients. *J Clin Microbiol*. 2004;42:1089-94.
58. Briñas L, Moreno MA, Teshager T, Saenz Y, Porrero MC, Dominguez L, et al. Monitoring and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:1262-4.
59. Blanc V, Mesa R, Saco M, Lavilla S, Prats G, Miró E, et al. ESBL- and plasmidic class C beta-lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Vet Microbiol*. 2006;20:299-304.
60. Romero L, López L, Martínez-Martínez L, Guerra B, Hernández JR, Pascual A. Characterization of the first CTX-M-14-producing *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* isolate. *J Antimicrob Chemother*. 2004;53:1113-4.
61. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, Perea EJ, Pérez-Cano R, et al. Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* as a cause of nosocomial infection or colonization: implications for control. *Clin Infect Dis*. 2006;42:37-45.
62. Velasco C, Romero L, Martínez JM, Rodríguez-Baño J, Pascual A. Analysis of plasmids encoding extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) from *Escherichia coli* isolated from non-hospitalised patients in Seville. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;29:89-92.

63. Bou G, Cartelle M, Tomas M, Canle D, Molina F, Moure R, et al. Identification and broad dissemination of the CTX-M-14 beta-lactamase in different *Escherichia coli* strains in the northwest area of Spain. *J Clin Microbiol*. 2002;40:4030-6.
64. Miró E, Mirelis F, Navarro F, Roig C, Ribera A, Mesa RJ, et al. ESBL in *Escherichia coli*: increase in prevalence and diversity. *Clin Microbiol Infect*. 2005;11 Suppl 2:118.
65. Cartelle M, del Mar Tomas M, Molina F, Moure R, Villanueva R, Bou G. High-level resistance to ceftazidime conferred by a novel enzyme, CTX-M-32, derived from CTX-M-1 through a single Asp240-Gly substitution. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:2308-13.
66. Livermore DM, Cantón R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother*. 2007;59:165-74.
67. Valverde A, Cantón R, Galan JC, Nordmann P, Baquero F, Coque TM. In117, an unusual In0-like class 1 integron containing CR1 and *bla*(CTX-M-2) and associated with a Tn21-like element. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:799-802.
68. European Antimicrobial Resistance Surveillance System. EARSS Annual report 2005. Bilthoven, 2006.
69. Goossens H, Grabein B. Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended-spectrum beta-lactamase- and AmpC-producing *Enterobacteriaceae* from the MYSTIC Program in Europe and the United States (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005;53:257-64.
70. Nijssen S, Florijn A, Bonten MJ, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC. Beta-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European *Enterobacteriaceae* isolates. *Int J Antimicrob Agents*. 2004;24:585-91.
71. Hirakata Y, Matsuda J, Miyazaki Y, Kamihira S, Kawakami S, Miyazawa Y, et al; SENTRY Asia-Pacific Participants. Regional variation in the prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005;52:323-9.
72. Chow JW, Satishchandran V, Snyder TA, Harvey CM, Friedland IR, Dinubile MJ. *In vitro* susceptibilities of aerobic and facultative gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: the 2002 Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Surg Infect (Larchmt)*. 2005;6:439-48.
73. Rossi F, Baquero F, Hsueh PR, Paterson DL, Bochicchio GV, Snyder TA, et al. *In vitro* susceptibilities of aerobic and facultatively anaerobic Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: 2004 results from SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). *J Antimicrob Chemother*. 2006;58:205-10.
74. Kim J, Lim YM, Rheem I, Lee Y, Lee JC, Seol SY, et al. CTX-M and SHV-12 beta-lactamases are the most common extended-spectrum enzymes in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* collected from 3 university hospitals within Korea. *FEMS Microbiol Lett*. 2005;245:93-8.
75. Yu WL, Chuang YC, Walther-Rasmussen J. Extended-spectrum beta-lactamases in Taiwan: epidemiology, detection, treatment and infection control. *J Microbiol Immunol Infect*. 2006; 39:264-77.
76. Yu Y, Ji S, Chen Y, Zhou W, Wei Z, Li L, Ma Y. Resistance of strains producing extended-spectrum beta-lactamases and genotype distribution in China. *J Infect*. 2007; 54:53-7.
77. Bae IK, Lee YN, Jeong SH, Lee K, Lee H, Kwak HS, et al. Prevalence of SHV-12 and the emergence of CTX-M-12 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Korea. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;29:362-4.
78. Wu JJ, Ko WC, Tsai SH, Yan JJ. Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants, QnrA, QnrB, and QnrS, among Clinical Isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese Hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:1123-7.
79. De Gheldre Y, Struelens MJ, Glupczynski Y, De Mol P, Maes N, Nonhoff C, et al. National epidemiologic surveys of *Enterobacter aerogenes* in Belgian hospitals from 1996 to 1998. *J Clin Microbiol*. 2001;39:889-96.
80. Dumarche P, De Champs C, Sirot D, Chanal C, Bonnet R, Sirot J. TEM derivative-producing *Enterobacter aerogenes* strains: dissemination of a prevalent clone. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1128-31.
81. Lavigne JP, Bouzuges N, Chanal C, Mahamat A, Michaux-Charachon S, Sotto A. Molecular epidemiology of *Enterobacteriaceae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases in a French hospital. *J Clin Microbiol*. 2004;42:3805-8.
82. Galdbart JO, Lemann F, Ainouz D, Feron P, Lambert-Zechovsky N, Branger C. TEM-24 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacter aerogenes*: long-term clonal dissemination in French hospitals. *Clin Microbiol Infect*. 2000;6:316-23.
83. Caccamo M, Perilli M, Celenza G, Bonfiglio G, Tempera G, Amicosante G. Occurrence of extended spectrum beta-lactamases among isolates of *Enterobacteriaceae* from urinary tract infections in southern Italy. *Microb Drug Resist*. 2006;12:257-64.
84. Baraniak A, Fiett J, Mrowka A, Walory J, Hryniewicz W, Gniadkowski M. Evolution of TEM-type extended-spectrum beta-lactamases in clinical *Enterobacteriaceae* strains in Poland. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49:1872-80.
85. Chang FY, Siu LK, Fung CP, Huang MH, Ho M. Diversity of SHV and TEM beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: gene evolution in Northern Taiwan and two novel beta-lactamases, SHV-25 and SHV-26. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:2407-13.
86. Karim A, Poirel L, Nagarajan S, Nordmann P. Plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence ISEcp1. *FEMS Microbiol Lett*. 2001;24:237-41.
87. Machado E, Coque TM, Cantón R, Baquero F, Sousa JC, Peixe L; Portuguese Resistance Study Group. Dissemination in Portugal of CTX-M-15, OXA-1-, and TEM-1-producing *Enterobacteriaceae* strains containing the *aac*(6)-Ib-cr gene, which encodes an aminoglycoside- and fluoroquinolone-modifying enzyme. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:3220-1.
88. Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, Turton J, Fagan EJ, James D, et al. Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum beta-lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother*. 2004;54:735-43.
89. Leflon-Guibout V, Jurand C, Bonacorsi S, Espinasse F, Guelfi MC, Duportal F, et al. Emergence and spread of three clonally related virulent isolates of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* with variable resistance to aminoglycosides and tetracycline in a French geriatric hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:3736-42.
90. Pitout JD, Church DL, Gregson DB, Chow BL, McCracken M, Mulvey MR, et al. Molecular epidemiology of CTX-M-producing *Escherichia coli* in the Calgary Health Region: The emergence of CTX-M-15-producing isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:1281-6.
91. Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, Walker VJ, Oh H, Robicsek A, Hooper DC. *qnrB*, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:1178-82.
92. Karisik E, Ellington MJ, Pike R, Warren RE, Livermore DM, Woodford N. Molecular characterization of plasmids encoding CTX-M-15 beta-lactamases from *Escherichia coli* strains in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58:665-8.
93. Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56:52-9.
94. Luzzaro F, Mezzatesta M, Mugnaioli C, Perilli M, Stefani S, Amicosante G, et al. Trends in production of extended-spectrum beta-lactamases among *Enterobacteria* of medical interest: report of the second Italian nationwide survey. *J Clin Microbiol*. 2006;44:1659-64.
95. Calbo E, Romani V, Xercavins M, Gomez L, Vidal CG, Quintana S, et al. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57:780-3.
96. Arpin C, Dubois V, Coulange L, Andre C, Fischer I, Noury P, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in community and private health care centers. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:3506-14.
97. Moubareck C, Daoud Z, Hakime NI, Hamze M, Mangeney N, Matta H, et al. Countrywide spread of community- and hospital-acquired extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-15)-producing *Enterobacteriaceae* in Lebanon. *J Clin Microbiol*. 2005;43:3309-13.
98. Brigante G, Luzzaro F, Perilli M, Lombardi G, Coli A, Rossolini GM, et al. Evolution of CTX-M-type β -lactamases in isolates of *Escherichia coli* infecting hospital and community patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2005; 25:157-62.
99. Mesa RJ, Blanc V, Blanch AR, Cortés P, González JJ, Lavilla S, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *J Antimicrob Chemother*. 2006;58:211-5.
100. Mirelis B, Navarro F, Miró E, Mesa RJ, Coll P, Prats G. Community transmission of extended-spectrum beta-lactamase. *Emerg Infect Dis*. 2003;9: 1024-5.
101. Castillo García FJ, Seral García C, De la Gandara MP, Millan Lou MI, Pitart Ferrer C. Prevalence of fecal carriage of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in hospitalized and ambulatory patients during two non-outbreak periods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007;26:77-8.
102. Nurul Atif MA, Loo HK, Subramaniam G, Wong EH, Selvi P, Ho SE, et al. Faecal prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing coliforms in a geriatric population and among haematology patients. *Malays J Pathol*. 2005;27:75-81.
103. Valverde A, Grill F, Cantón R, Coque TM, Rollán A, García San Miguel L, et al. Intestinal colonization with extended spectrum β -lactamases producing organism (ESBL-PO) in cohabitants of patients with community acquired infections due to ESBL-PO. 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. (ICAAC). Washington, diciembre 2005.

104. Morosini MI, Garcia-Castillo M, Coque TM, Valverde A, Novais A, Loza E, et al. Antibiotic coresistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and *in vitro* activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:2695-9.
105. Hammond DS, Schooneveldt JM, Nimmo GR, Huygens F, Giffard PM. *bla*(SHV) Genes in *Klebsiella pneumoniae*: different allele distributions are associated with different promoters within individual isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:256-63.
106. Poirel L, Lartigue MF, Decousser JW, Nordmann P. ISEcp1B-mediated transposition of *bla*_{CTX-M} in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:447-50.
107. Toleman MA, Bennett PM, Walsh TR. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? *Microbiol Mol Biol Rev.* 2006;70:296-316.
108. Machado E, Cantón R, Baquero F, Galan JC, Rollan A, Peixe L, et al. Integron content of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains over 12 years in a single hospital in Madrid, Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:1823-9.
109. Baquero F. From pieces to patterns: evolutionary engineering in bacterial pathogens. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2:510-8.
110. Pitout JD, Laupland KB, Church DL, Menard ML, Johnson JR. Virulence factors of *Escherichia coli* isolates that produce CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:4667-70.
111. Branger C, Zamfir O, Geoffroy S, Laurans G, Arlet G, Thien HV, et al. Genetic background of *Escherichia coli* and extended-spectrum beta-lactamase type. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:54-61.