



**Universidad Nacional del Nordeste**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Carrera de Especialización en Bacteriología Clínica**

**“Interacción *in vitro* entre Cotrimoxazol y  
Norfloxacinina en bacterias uropatógenas”**

**Alumna: Bqca. Cochetti, Lorena Paola**  
**Director: Mgter. Esquivel, Graciela Patricia**  
**Corrientes - Argentina**  
**2014**

## INTRODUCCION

Los antimicrobianos son sustancias naturales o sintéticas cuya función es inhibir el crecimiento o destruir a la célula bacteriana.

Hay una amplia diversidad de familias y grupos de antimicrobianos de interés en medicina humana. Los mecanismos por los que estos compuestos inhiben el crecimiento o causan la muerte de las bacterias son muy variados, y dependen de las dianas afectadas.

Los antimicrobianos de uso clínico ejercen su acción en algunas de las siguientes estructuras ó funciones bacterianas:

- Inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana ( $\beta$ -lactámicos, Glucopéptidos, Bacitracina, Isoxazolidinonas, Fosfonopéptidos).
- Alterando la integridad de la membrana citoplasmática (Polimixinas, Lipopéptidos, Ionóforos, Formadores de poros)
- Inhibiendo la síntesis proteica (Ácido fusídico, Aminoglucósidos, Anfencoles, Estreptograminas, Lincosamidas, Macrólidos, Mupirocina, Oxazolidinonas, Tetraciclinas, Glicilciclinas)
- Alterando el metabolismo ó la estructura de los ácidos nucleicos (Quinolonas, Rifamicinas, Nitroimidazoles, Nitrofuranos)
- Bloqueando la síntesis de factores metabólicos (Sulfonamidas, Diaminopirimidinas)
- Inhibiendo de  $\beta$ -lactamasas (Ácido clavulánico, Sulbactam, Tazobactam).(1)

La resistencia antibiótica es un fenómeno biológico natural debido a las mutaciones y a la gran capacidad de las bacterias de transferir horizontalmente su material genético, existiendo una clara correlación entre el uso de antibióticos y la resistencia bacteriana. Se constituye así en un problema a nivel mundial que supone mayor sufrimiento humano, pérdida en la productividad y mortalidad. La relación antibiótico-bacteria se ve alterada por

otros múltiples factores como la farmacocinética de la droga, la dosis, la duración del tratamiento, el tamaño de inóculo bacteriano, etc., por lo que para optimizar el uso de estos fármacos, se realizan supervisiones periódicas de la resistencia como parte trascendental de la política de control de la resistencia antibiótica.(2)

Los mecanismos de resistencia antibiótica se adquieren mediante mutaciones puntuales a nivel cromosómico o transferencia horizontal de material genético entre especies relacionadas o diferentes facilitada por algunos elementos móviles tales como los integrones. Esta transferencia horizontal permite que los mecanismos se trasladen entre diferentes enteropatógenos y que se diseminen rápidamente a nivel mundial.

Para cada familia de antibióticos existe más de un mecanismo de resistencia antibiótica descrito, como en el caso de la quinolonas que presentan mutaciones cromosómicas; proteínas que impiden la unión del antibiótico y las bombas de eflujo específicas.

En general, los mecanismos moleculares de resistencia más comunes son:

- Inactivación enzimática: el principal mecanismo es la hidrólisis, pero también pueden ocurrir acetilaciones, adenilaciones o fosforilaciones. Ej:  $\beta$ -lactámicos, Aminoglucósidos, Cloranfenicol, etc.
- Alteraciones en el sitio blanco: modificaciones en el gen que codifica el propio blanco del antimicrobiano. Ej: Quinolonas, Trimetoprima, Rifampicina, etc.
- Alteraciones de la permeabilidad: cambios en las formas de las porinas en la membrana externa, impiden la entrada del antimicrobiano. Ej: Penicilinas, eritromicina, etc.
- Sistemas de expulsión activos: sistema de transporte, a través de la membrana, que facilita la salida del antimicrobiano. Ej: Quinolonas,  $\beta$ -lactámicos, etc.

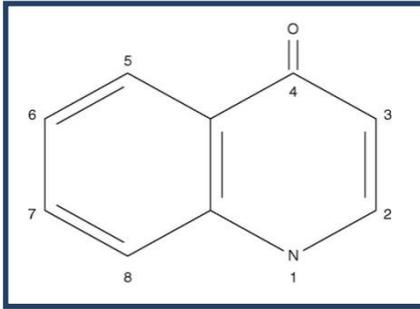
Los genes de resistencia a antimicrobianos surgen ante el uso de un antibiótico específico y pueden generar resistencia cruzada, afectando otros antibióticos de la misma clase o con el mismo mecanismo de acción, incluso a compuestos de familias diferentes. Asimismo, en numerosas ocasiones genes de resistencia a diferentes antimicrobianos se encuentran asociados en una misma estructura genética (integrones), lo que da lugar al fenómeno de co-selección de resistencia (mantenimiento en la bacteria de genes capaces de conferir resistencia a un antimicrobiano, mediante el uso de un agente antimicrobiano no emparentado). De esta manera conocer el bagaje de genes de resistencia contribuye a tomar mejores políticas de uso antibiótico que intenten controlar la diseminación de estos genes. El control de la resistencia antibiótica es parte transcendental de la política de control de la vigilancia antibiótica como lo recomienda la Organización Mundial de la Salud (OMS). (2)

Las enterobacterias a nivel mundial presentan alta resistencia a  $\beta$ -lactámicos, tetraciclina, cloramfenicol, quinolonas y trimetoprim-sulfametoxazol por lo que se debe determinar la prevalencia de los diferentes genes relacionados a nivel molecular. (2)

## **QUINOLONAS**

Las quinolonas comenzaron a utilizarse para el tratamiento de la infección urinaria en el año 1960 con la introducción del ácido nalidíxico en la práctica clínica. Posteriormente, en 1980, las fluoroquinolonas reemplazaron a las quinolonas antiguas por su amplio espectro y mejor farmacocinética y farmacodinámica.(3)

Las quinolonas de uso clínico tienen una estructura formada por dos anillos, con un nitrógeno en la posición 1, un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo carboxilo en la posición 3. (**Figura 1**).



**Figura 1.** Estructura de la 4- quinolona

La potencia y el espectro de acción aumentan de manera significativa cuando llevan átomos o grupos sustituyentes en las posiciones 6,7 u 8 (4). De forma semejante a lo que ocurre con las cefalosporinas, las quinolonas se han clasificado en generaciones atendiendo a su espectro de actividad y propiedades farmacocinéticas. Así, norfloxacin (NOR) está incluida entre las quinolonas de 2ª generación. (5)

Las quinolonas ejercen su mecanismo de acción bloqueando las topoisomerasas II (ADN-girasa – codificada por los genes *gyrA* y *gyrB*) y IV (codificada por los genes *parC* y *parE*). Entre los mecanismos moleculares de resistencia a quinolonas se encuentran las alteraciones en los blancos de quinolonas, las bombas de expulsión activa y la transferencia (a través de plásmidos) de genes de resistencia.

Para desarrollar resistencia a las fluoroquinolonas de segunda generación (ciprofloxacina, ofloxacina), las bacterias solo necesitan de una mutación en la ADN girasa; mientras que las fluoroquinolonas más nuevas como moxifloxacina y gatifloxacina fueron específicamente diseñadas para verse menos afectadas por las mutaciones espontáneas, ya que necesitan generalmente de dos mutaciones bacterianas para generar resistencias.(6) La resistencia clínica a las quinolonas en enterobacterias se alcanza por una acumulación de mutaciones en los genes de las topoisomerasas, fundamentalmente *gyrA* y *parC*.

Otros mecanismos de resistencias como la hiperexpresión de bombas de expulsión activa o las alteraciones de las porinas causan un nivel de resistencia bajo. Se han descrito varios sistemas de expulsión activa, de los que *AcrAB-TolC* en enterobacterias, es uno de los más conocidos.

La resistencia a quinolonas mediada por genes plasmídicos es de bajo nivel pero facilita la selección de mecanismos adicionales de resistencia, que contribuirán a un mayor nivel de resistencia. (7)

## **SULFAMIDAS**

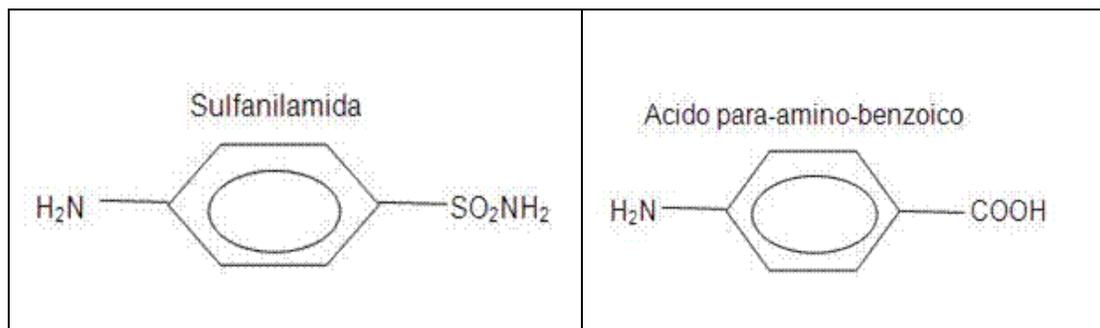
Son antimicrobianos sintéticos, bacteriostáticos, de amplio espectro, inicialmente con actividad frente a una gran variedad de microorganismos grampositivos y gramnegativos pero con posterior desarrollo de amplia resistencia. Dentro de las sulfamidas existen numerosos compuestos con diferentes propiedades farmacocinéticas y efectos secundarios. Actúan sinérgicamente con algunos componentes de la familia de las diaminopirimidinas como la pirimetamina y el trimetoprima contra bacterias y algunos protozoos. (8)

Las sulfamidas son análogos del ácido para-aminobenzoico (PABA) (**Figura 2**), y por tanto, compiten por la enzima dihidropteroatosintetasa, impidiendo así la formación de ácido dihidropteroico, precursor del ácido fólico. Estos antimicrobianos no afectan a las células humanas, que obtienen ácido fólico de la dieta. De este grupo, algunos de los utilizados en clínica son: sulfametoxazol (asociado a trimetoprima), sulfisoxazol, suladiazina, sulfacetamida,

Las diaminopirimidinas, como la trimetoprima y la pirimetamina, compiten por la enzima dihidrofolatoreductasa que cataliza la conversión de ácido dihidrofólico en ácido tetrahidrofólico. El cotrimoxazol (CTMX) es la combinación de trimetoprima y sulfametoxazol en proporción 1:5, y por tanto, actúa en dos etapas de la síntesis de ácido

folínico, pudiendo llegar a tener efecto bactericida por la sinergia ente sus dos componentes. (1,8)

**Figura 2:** Estructura química de la Sulfanilamida y PABA



A partir de la sulfanilamida se han sintetizado un gran número de derivados que pueden clasificarse según la duración de su acción (corta, intermedia, prolongada) y las vías de administración (digestiva y tópicas). El CTMX (sulfametoxazol + trimetroprima) se encuentra incluido entre las sulfamidas de acción corta o intermedia.

Varios mecanismos determinan la resistencia bacteriana a las sulfamidas: disminución de la permeabilidad; sistemas de expulsión activa; alteraciones enzimáticas que por una vía alternativa o por hiperproducción permiten la síntesis del ácido fólico; adquisición de plásmidos u otros elementos genéticos móviles que además de la resistencia a sulfamidas portan genes de resistencia a otros antibióticos. El gen de resistencia a sulfamidas (*sul1*) es un elemento constante en los integrones tipo I, el integrón encontrado con más frecuencia en cepas de casos clínicos con resistencia a múltiples antibióticos. (8)

### **ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD BACTERIANA A LOS ANTIMICROBIANOS**

El estudio de la sensibilidad a antimicrobianos de las diferentes bacterias aisladas en muestras biológicas tiene dos objetivos fundamentales: guiar al clínico en la elección del mejor tratamiento individual y monitorizar la evolución de la resistencia bacteriana

Uno de los métodos fenotípicos que estudia la sensibilidad de los antimicrobianos es el antibiograma (método de difusión en agar), que mide la sensibilidad de una bacteria frente a diferentes antimicrobianos *in vitro* y a partir de estos resultados predice la eficacia *in vivo*. Con un antibiograma se pueden obtener resultados cualitativos que indican si la bacteria es sensible o resistente a un antibiótico. (9)

La interpretación de los resultados del antibiograma se realiza en función de los valores establecidos por diferentes comités, que determinan y establecen puntos de corte basados en propiedades microbiológicas, farmacocinéticas y de eficacia clínica, para definir la sensibilidad o resistencia de las diferentes especies bacterianas a cada antimicrobiano.

En la lectura interpretada del antibiograma debe procesarse la información en función de los fenotipos obtenidos con el objetivo final de la detección del mecanismo de resistencia.

El fenotipo de sensibilidad o de resistencia se define como el conjunto de datos obtenidos en el antibiograma para antibióticos de la misma familia o relacionados por mecanismos de actuación comunes o mecanismos de resistencia compartidos. (10)

Una ventaja de la técnica de difusión en agar es que permite observar la presencia o ausencia de fenómenos de antagonismo o de sinergia entre diferentes antimicrobianos.

Un ejemplo muy conocido es la sinergia entre un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, como por ejemplo el ácido clavulánico, y una cefalosporina de tercera. En este caso, sobre todo si se trata de una enterobacteria o *P. aeruginosa*, se debe pensar en la posible presencia de una  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE).

En la detección de la betalactamasa cromosómica inducible de clase C en bacterias gramnegativas observaremos un fenómeno de inducción (antagonismo), generalmente por betalactámicos como el imipenem o la ceftoxitina reduciéndose los halos de inhibición

al resto de betalactámicos sensibles, mayoritariamente cefalosporinas de tercera y cuarta generación y el aztreonam.

En cualquier caso, el conocimiento de la presencia de uno u otro mecanismo tiene sin duda un gran interés clínico permitiendo predecir la respuesta terapéutica en determinadas circunstancias así como un gran interés epidemiológico. Una de las principales aportaciones del estudio de sinergia y antagonismo entre antimicrobianos es la ayuda a la lectura interpretada del antibiograma. (10,11)

La prueba de sinergia de doble disco (DDST, del inglés *Double-Disc Synergy Test*) fue el primer método propuesto para el cribado de BLEE. Si el resultado de la DDST es negativo, pero la sospecha de producción de BLEE es alta, resultaría necesario repetir la prueba ajustando la distancia entre los discos, generalmente disminuyendo la distancia entre los mismos, lo que aumenta la sensibilidad, al menos en *E. cloacae*. Con *P. mirabilis* hay que aumentar la distancia, porque la BLEE se puede expresar a bajo nivel.

Las limitaciones de la doble difusión con discos dependen de la pericia en la realización de la prueba (disposición de los discos) y en la interpretación de la sinergia. En cepas con problemas de permeabilidad o con resistencia simultánea a los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas puede verse mermada la capacidad de detección de esta prueba. (12,13)

## **JUSTIFICACIÓN**

La observación e interpretación clínica o microbiológica de la interacción *in vitro* entre CTMX y NOR no se encuentra descrita en la bibliografía disponible.

La interpretación adecuada de esta evidencia microbiológica, que si bien, aparentemente, es de baja frecuencia, ayudaría a decidir sobre la correcta instauración del tratamiento antimicrobiano al mismo tiempo que facilitaría información epidemiológica relevante y mejoraría la calidad y gestión de los resultados del laboratorio.

## **HIPÓTESIS**

La interacción observada *in vitro* entre CTMX y NOR en bacterias uropatógenas predice resistencia a uno ó ambos antimicrobianos.

## **OBJETIVOS GENERALES**

Interpretar la interacción observada entre CTMX y NOR en bacterias uropatógenas

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Establecer la prevalencia de presentación en el medio local.
- Contribuir a aumentar la información dada por el antibiograma.

## MATERIALES Y METODO

Este trabajo se realizó en el período de Agosto 2012 a Septiembre 2013 en el área Microbiología de un Laboratorio de Análisis Clínicos de gestión privada de la ciudad de Corrientes.

En este período se seleccionaron 20 (veinte) cepas recuperadas de muestras de orina de pacientes ambulatorios con infección urinaria no complicada y sin patologías de base que en el antibiograma presentaron un efecto de agrandamiento o deformación de la zona de inhibición de NOR en las proximidades del disco de CTMX cuando los discos se disponían a una distancia - centro a centro - de 2,7 cm.

Se realizó un estudio observacional prospectivo.

La evaluación de la sensibilidad a los antimicrobianos fue realizado por el método de difusión en agar siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Se empleó la cepa de referencia *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 para el control de calidad del medio de cultivo Mueller Hinton (Oxoid®) y la cepa de referencia *Escherichia coli* ATCC 25922 para el control de calidad de los discos CTMX (25 µg) y NOR (10 µg) (Oxoid®).

Los puntos de cortes para NOR y CTMX utilizados en los antibiogramas realizados a cada cepa fueron los recomendados por la CLSI y se muestran en la **Tabla 1**. (14,15,16)

Antimicrobiano	Contenido del disco (µg)	Diámetro de la Zona Criterios de interpretación		
		S	I	R
CTMX	1.25 / 23.75	≥ 16	11-15	≤ 10
NOR	10	≥17	13 – 16	≤ 12

Además de la distancia entre discos previamente especificada, se realizó la prueba de sensibilidad utilizando las distancias de 3,2 cm y 2,2 cm (centro a centro).

Las cepas analizadas en esta experiencia se mantienen viables por conservación en medio agar – cepa a fin de poder utilizarlas en estudios posteriores.

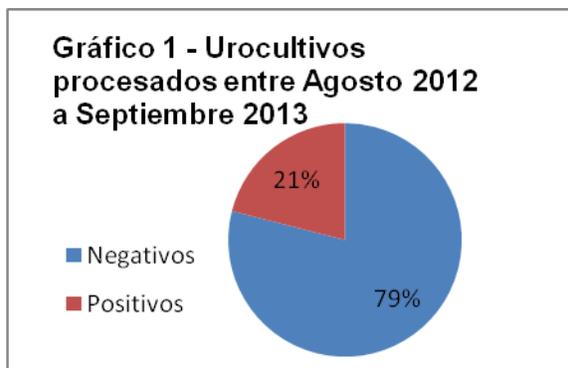
El análisis estadístico de los datos se realizó con el software EPI INFO™ v7.

## RESULTADOS

El número total de urocultivos de pacientes ambulatorios sin patología de base procesados en el período de Agosto 2012 a Agosto 2013 fue de 3.847, de los cuales fueron negativos 3.039 (79%) y positivos 808 (21%) como se muestran en el **Cuadro 1 y**

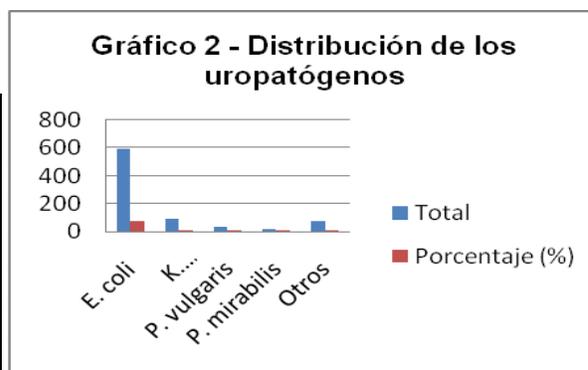
**Gráfico 1.**

Negativos	3039	79%
Positivos	808	21%
Totales	3847	100%



En el **Cuadro 2 y Gráfico 2** se muestra la distribución encontrada con respecto a los distintos géneros y especies identificadas. En la categoría “Otros” se incluyen los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosas* y *Candidas albicans*.

Uropatógeno	Total	%
<i>E. coli</i>	590	73,02
<i>K. pneumoniae</i>	95	11,76
<i>P. vulgaris</i>	30	3,71
<i>P. mirabilis</i>	14	1,73
Otros	79	9,78



Los urocultivos positivos cuyos patógenos presentaron un efecto de agrandamiento o deformación de la zona de inhibición de NOR en las proximidades del disco de CTMX

fueron 20, los que representan un 2,5% del total de los urocultivos positivos. Un ejemplo del efecto descrito puede apreciarse en la **Foto 1**.



**Foto 1 – *P. mirabilis***  
Se observa deformación de halo de inhibición.  
T=CTMX N=NOR

Ensayo por duplicado

Cepa N°	Identificación	CTMX	NOR	P.S.
1	<i>E. coli</i>	R	S	C
2	<i>P. mirabilis</i>	S	S	A
3	<i>E. coli</i>	R	S	C
4	<i>E. coli</i>	S	S	A
5	<i>E. coli</i>	S	S	A
6	<i>E. coli</i>	S	S	A
7	<i>E. coli</i>	S	S	A
8	<i>K. pneumoniae</i>	S	R	B
9	<i>E. coli</i>	S	S	A
10	<i>P. mirabilis</i>	S	S	A
11	<i>E. coli</i>	S	S	A
12	<i>E. coli</i>	S	S	A
13	<i>E. coli</i>	R	S	C
14	<i>E. coli</i>	R	S	C
15	<i>E. coli</i>	S	S	A
16	<i>E. coli</i>	S	S	A
17	<i>E. coli</i>	S	S	A
18	<i>E. coli</i>	R	S	C
19	<i>P. mirabilis</i>	S	S	A
20	<i>E. coli</i>	S	S	A

**P.S.**= perfil de sensibilidad  
R= resistente; S=sensible.

Los géneros y especies que presentaron dicho efecto fueron *E. coli*, *P. mirabilis* y *K. pneumoniae*, cuya distribución porcentual se muestran en el **Cuadro 3**.

Microorganismo	Número	(%)
<i>E. coli</i>	16	80
<i>P. mirabilis</i>	3	15
<i>K. pneumoniae</i>	1	5
Total	20	100

Los resultados de las pruebas de sensibilidad a CTMX y NOR (**Tabla 2**) obtenidos para cada una de las 20 (veinte) cepas estudiadas muestran tres perfiles de sensibilidad: **A**: cepas sensibles a CTMX y NOR (**Foto 2**); **B**: cepas sensibles a CTMX y resistentes a NOR (**Foto 3**); **C**: cepas resistentes a CTMX y sensibles a NOR (**Foto 4**). El perfil **A** se presenta en 14 (70%) cepas (3 (tres) *P. mirabilis* y en 11(once) *E. coli*); **B** se presenta en 1(5%) cepa de *E. coli*; mientras que **C** se presenta en 5 (25%) cepas (1 (uno) *K. pneumoniae* y 4 (cuatro) *E. coli*).

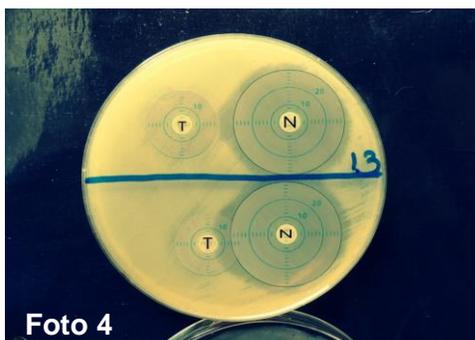


**Foto 2 - *E.coli***  
 Perfil de sensibilidad tipo **A**  
 T=CTMX N=NOR

Ensayo por duplicado



**Foto 3 – *K. pneumoniae***  
 Perfil de sensibilidad tipo **B**  
 T=CTMX N=NOR

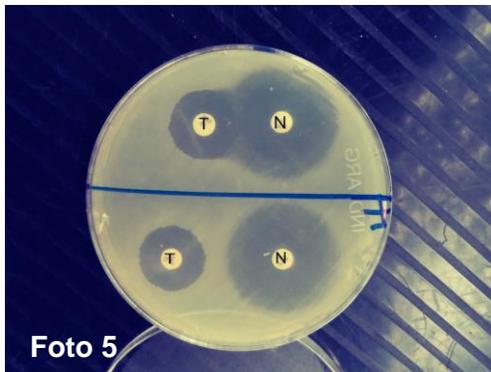


**Foto 4 – *E. coli***  
 Perfil de sensibilidad tipo **C**  
 T=CTMX N=NOR

Ensayo por duplicado

La variación de la distancia de ubicación de los dos discos de antimicrobianos utilizados no alteró la observación del efecto de agrandamiento o deformación cuando los discos se

colocaron a una distancia de 2,2 cm (acercamiento), mientras que cuando se alejan los discos, se dificulta la observación de dicho efecto (**Foto 5**)



**Foto 5 – *E. coli***  
T=CTMX N=NOR  
Parte superior: distancia 2,2 cm  
Parte inferior: distancia 3,2 cm

## DISCUSIÓN

Habiendo seguido las recomendaciones de la CLSI para la realización del antibiograma por el método de difusión en agar, se observó un efecto de agrandamiento o deformación de la zona de inhibición de NOR en las proximidades del disco de CTMX. Esta observación no está documentada en la bibliografía disponible.

Al igual que C. Seral García et al. (12) cuando analizan la presencia de BLEE, el acercamiento de los discos favorece la observación de la interacción, mientras que el alejamiento dificulta esta detección. Así también, cuando trabajamos con *P. mirabilis* el alejamiento de los discos mejora notablemente la observación del efecto.

Aparentemente, la disminución de la distancia entre discos contribuye a mejorar la sensibilidad de la prueba.

Por otra parte se observa que el efecto persiste aun cuando la enterobacteria presenta resistencia a uno de los antimicrobianos estudiados, como ocurre con algunas cepas de *E. coli*.

## **CONCLUSIÓN**

Dada la presencia de este fenómeno de agrandamiento o deformación de la zona de inhibición entre los discos, aplicaría una cuidadosa lectura del antibiograma para advertirlo y realizar, sobre las cepas que lo presentan, estudios complementarios que ayuden a entender los mecanismos de resistencia que se expresan a través de este fenómeno.

La adecuada interpretación de esta observación determinará la implicancia del mismo respecto a la sensibilidad / resistencia de los antimicrobianos ensayados.

Se deberían realizar estudios de biología molecular para aproximar una descripción genotípica de esta evidencia microbiológica.

## BIBLIOGRAFIA

1. Calvo, J.; Martínez -Martínez, L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(1):44–52.
2. Mosquito, S.; Joaquim Ruiz, J.; José Luis Bauer, J.L.; Ochoa, T.J. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarreas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2011;28(4):648-56.
3. Horcajada J.P.; Fariñas M. Implicaciones de las resistencias bacterianas en las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005;23(1):1-3
4. Alós J. I. Quinolonas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(5):290–297
5. Mella M.S.; Acuña L. G.; Muñoz Q. M.; Perez C.C.; Labarca L.J.; Gonzales R.G.; Bello T.H.; Dominguez Y.M.; Zemelman Z.R. Quinolonas: Aspectos generales sobre su estructura y clasificación. *Rev Chil Infect*. 2000;17(1):53-66
6. Wong C.A., Galvis V., Tello A., Villareal D., Rey J.J. Susceptibilidad antibiótica *in vitro* a fluoroquinolonas. *Arch. Soc. Esp. Oftalmol*. 2012;87(3):72–78
7. Navarro F.; Calvo J.; Cantón R.; Fernandez-Cuenca F.; Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(7):524–534
8. Perez-Trallero E., Iglesias L. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003;21(9):520-9.
9. Cercenado E, Saavedra-Lozano J. El antibiograma. Interpretación del antibiograma: conceptos generales (I). *An Pediatr Contin*. 2009;7(4):214-7
10. Cantón, R. Lectura interpretada del antibiograma: una necesidad clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(6):375–385
11. Navarro, F; Mirelis, B. Relevancia de la detección de los fenómenos de sinergias y antagonismos entre antimicrobianos en los sistemas automatizados de lectura de antibiogramas. *Infecc Microbiol Clin*. 2007;(25):75-6.
12. Seral-García, C.; Prados de la Gándara, M.; Castillo-García, F.J.  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(supl 1):12-18
13. Drieux L.; Brossier F.; Sougakoff W.; Jarlier V. Detección fenotípica de espectro extendido la producción de beta-lactamasa en *Enterobacteriaceae*: revisión y guía blanca. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Jan; (Supl 1):90-103. PMID: 18154532
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100 S22. Tabla 2A *Enterobacteriaceae* M02 and M07. 2012. January:1-188.
15. Corso A., Pasteran F. Antimicrobianos, novedades 2013. Servicio Antimicrobianos. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. 2013. <http://antimicrobianos.com.ar/category/algoritmos-manuales-protocolos/>
16. Rapoport M. Antimicrobianos, novedades 2014. Servicio Antimicrobianos. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. 2014.
17. Perozo-Mena, A., Castellano-Gonzales, M., Ginestre-Pérez, M., Harris, B. Caracterización molecular y detección de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas en las unidades de cuidados intensivos de un hospital universitario. *Kasmera* 2007;35(2):91-106