Enterobacterias productoras de Beta Lactamasa de espectro expandido en pacientes críticos de la Maternidad «Concepción Palacios»

V. Vergara [1], Y. Rodríguez [1], E. Benítez [1], Y. Garmendia [1], M. Morales [1], R. López [1], L. Torres [2]

RESUMEN

Dentro de los mecanismos de resistencia bacteriana encontrados en los miembros de las *Enterobacteriaceae*, las Beta Lactamasas de Espectro Expandido (BLEE), juegan un papel importante ya que debido a su naturaleza plasmídica pueden diseminarse a otros géneros diferentes a *E. coli, K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, de donde principalmente se han descrito y confieren resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y a aztreonam. Dado que en la Maternidad "Concepción Palacios" (MCP) la mayor parte de los pacientes constituyen neonatos y el tratamiento empleado principalmente son cefalosporinas, se evaluó la frecuencia en este centro de Enterobacterias productoras de BLEE aislados en áreas críticas de muestras de hemocultivos, puntas de catéter, orina y secreciones en el período comprendido de Enero a Junio de 2006. La identificación y sensibilidad se realizaron con las galerías ID32GN y ATBGN-5 respectivamente, utilizando el equipo semiautomatizado Mini API (BioMérieux). Para la detección fenotípica de producción de BLEE se empleó el método de doble difusión con discos y el método recomendado por el Clínical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (1). La mayor frecuencia se obtuvo para *Pantoea agglomerans*, seguida de *Klebsiella pneumoniae, y Enterobacter cloacae*. El 80 % de las enterobacterias aisladas, fueron productoras de BLEE.

Palabras clave: Enterobacterias, Beta Lactamasa de Espectro Expandido, *Pantoea agglomerans.*

Expanded spectrum Beta Lactamase producting enterobacterias in critical patients from Maternity Hospital «Concepción Palacios»

SUMMARY

Inside the mechanisms of bacterial resistance found in members of the *Enterobacteriaceae* family, the Expanded Spectrum Beta Lactamasas (ESBL), play an important role due to its plasmid nature it can be spread to other different genera to *E. coli, K.pneumoniae,* and *K. oxytoca*, wherefrom principally they have been described, and award resistance to cephalosporin of third and fourth generation and to aztreonam. In view of the Maternity "Concepción Palacios" (MCP) most of the patients constitutes newborn, and the principally used treatment are cephalosporin, the frequency of ESBL producting enterobacteria was evaluated in this center, isolated in critical areas from samples of blood cultures, tops of catheter, urine and secretions from January to June, 2006. The identification and sensibility were realized by the galleries ID32GN and ATBGN-5 respectively, using the semi automated Mini API (BioMérieux) equipment. For the phenotypical detection of ESBL production there were used the double diffusion of disc method and the method recommended by the Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (1). The major frequency was to *Pantoea agglomerans* followed by *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter cloacae*. 80 % of the isolated enterobacteria, were producer of ESBL.

Key works: Enterobacterias, BLEE, bacterial resistance, *Pantoea agglomerans*.

1. Departamento de Bacteriología, Maternidad Concepción Palacios.
2. Cátedra de Microbiología. Escuela de Bioanálisis. Universidad Central de Venezuela. Caracas Venezuela.

Introducción

En los bacilos Gram negativos la producción de e-lactamasas es el principal mecanismo de resistencia. Se han descrito una gran variedad de e -lactamasas, sin embargo las e -lactamasas de espectro ampliado (BLEA) SHV y TEM son las más frecuentemente aisladas en las enterobacterias (2). A partir de la década de los ochenta, producto de mutaciones puntuales a nivel de los aminoácidos que conforman el sitio activo de las BLEA, se originaron enzimas con la capacidad de hidrolizar a los oxymino-e-lactámicos (cefalosporinas de 3ra. generación C3G y aztreonam). Estas enzimas se denominaron e-lactamasas de espectro expandido (BLEE) (3), fueron reportadas originalmente en Europa en el año 1983, pero a partir de ese momento, se han diseminado a nivel mundial (2). Las BLEE han sido reportadas principalmente en aislados de *K. pneumoniae, K. oxytoca y E. coli*, pero la naturaleza plasmídica de los genes codificantes de estas enzimas, ha generado una amplia diseminación de las mismas, a otros géneros bacterianos como *Proteus, Salmonella, Enterobacter, Citrobacter,* etc., esta situación se observa principalmente en el ambiente hospitalario (4,5). Por otro lado, los genes que codifican para la producción de BLEE se encuentran localizados en megaplásmidos (>100KDa), que frecuentemente codifican resistencia a otros antimicrobianos, tales como aminoglicósidos, cloranfenicol, tetraciclinas y trimethoprim-sulfametazol. La susceptibilidad a las fluoroquinolonas es muy variable, de acuerdo con la cepa aislada y las tendencias de resistencia. Es por ello que el tratamiento de estos organismos multiresistentes es sumamente difícil, en múltiples ocasiones las opciones terapéuticas se restringen solo a los carbapenems (6).

Es bien conocido el mal pronóstico clínico que tienen aquellos pacientes que sufren infecciones por microorganismos productores de BLEE cuando son tratados con C3G o aztreonam (7), por lo tanto el conocimiento de la frecuencia de dichos aislamientos en cualquier centro hospitalario constituye una herramienta fundamental en el momento de seleccionar la terapia empírica en aquellos pacientes con infecciones de alto riesgo, evitando los fracasos terapéuticos clínicos y contribuyendo así con la disminución del valor costo-beneficio generado por las infecciones bacterianas. Adicionalmente, se previene la diseminación horizontal, especialmente en las Unidades de Terapia Intensiva (8).

La Maternidad "Concepción Palacios" (MCP), es un hospital catalogado de Tipo IV, con aproximadamente 460 camas operativas y cuya misión es la atención de mujeres embarazadas y al producto de su embarazo (neonatos), así como también a mujeres no embarazadas con problemas de aborto, cáncer, entre otros. Debido a la población de la cual hacemos referencia, las cefalosporinas constituyen los antibióticos principalmente utilizados, es por ello que se quiso conocer la frecuencia de la producción de BLEE en enterobacterias aisladas de los pacientes hospitalizados en áreas críticas de dicho centro.

Métodos

Se hizo un estudio retrospectivo de los aislamientos de enterobacterias obtenidas en muestras de hemocultivos, punta de catéteres, orinas y secreciones, de los pacientes ubicados en los Servicios Neonatales (SN) y la Unidad de Terapia Intensiva de Adultos (UTIA) de la Maternidad "Concepción Palacios" en el período comprendido entre enero y junio de 2006.

Muestras

Las muestras analizadas fueron hemocultivos, puntas de catéteres, orinas y secreciones de heridas.

Los hemocultivos se tomaron siguiendo las normas de asepsia establecidas. Se obtuvo una muestra por paciente en los casos de neonatos. Para los adultos, se obtuvieron por lo menos dos muestras con un intervalo de diferencia de 15 minutos entre cada toma. Las muestras de sangre se inocularon en botellas pediátricas (Bact/ALERT® PF BioMérieux, Inc. Dirham, NC 27704) y botellas para adulto (Bact/ALERT® FA BioMérieux, Inc. Dirham, NC 27704), del equipo automatizado Bact/Alert (Organón Técnica Corporation), donde fueron monitoreadas hasta su positivización. La cantidad de muestra inoculada fue de 1 a 3 ml de sangre para los frascos pediátricos y de 7 a 10 ml para los frascos de adultos.

Las puntas de catéteres fueron obtenidas con las medidas de asepsia establecidas, se enviaron 5 cm de la punta distal al laboratorio en inyectadora estéril.

Las orinas se tomaron en bolsas recolectoras, siguiendo las medidas de higiene necesarias en los pacientes pediátricos y a través de catéter en los pacientes adultos.

Las secreciones de herida fueron tomadas por el médico y se utilizaron culturettes con medio de Stuart como medio de transporte (Copan Innovation, Italy).

Las muestras fueron inoculadas en los medios de cultivo de Agar Sangre (Becton, Dickinson and Company Sparks, MD 21152 USA), Agar GC Medium (Becton, Dickinson and Company Sparks, MD 21152 USA) y Agar Levine Eosina Azul de Metileno (Becton, Dickinson and Company Sparks, MD 21152 USA). Los medios de cultivo de Agar Sangre y Agar GC se incubaron en atmósfera de 5-10% de CO2 a 35°C, y el medio Agar Levine Eosina Azul de Metileno, en estufa a 35°C.

Cepas bacterianas

Se procesaron un total de 206 aislamientos de enterobacterias, de las cuales: 139 se obtuvieron de hemocultivos, 26 de puntas de catéteres, 3 de muestras de orinas y 38 de secreciones de heridas. La mayoría de los aislamientos correspondieron a 176 neonatos ubicados en los Servicios Neonatales y los 18 restantes eran pacientes adultos ubicados en la UTIA.

Identificación de las cepas bacterianas

La identificación y la sensibilidad de las cepas se realizaron mediante el sistema semiautomatizado miniAPI (BioMérieux) utilizando galerías ID32GN y ATBGN-5 respectivamente. Adicionalmente, la identificación de las enterobacterias, se realizó siguiendo la metodología descrita por Murray y col (6) y las pruebas de sensibilidad se llevaron a cabo por el método de difusión en disco descrita por Bauer y Kirby (9) y se interpretaron según los lineamientos establecidos en el CSLI (1).

Detección fenotípica de BLEE

A los aislamientos en los cuales se observó una disminución en el halo de inhibición correspondiente a las cefalosporinas de tercera generación (C3G), y a los que se le observó resistencia a los aminoglicósidos y/o quinolonas, se les hizo la detección fenotípica de producción de BLEE.

La detección de BLEE se realizó mediante el método de doble difusión con discos recomendado por Jarlier y col (10). A los aislamientos que mostraban agrandamiento del halo en la zona de confluencia entre la C3G y el ácido clavulánico, se les realizó el método recomendado por el CLSI (1), utilizando los discos Ceftazidima (30 pg, Oxoid Limeted, Basingstoke, Hampshire, England), Ceftazidima/ác. clavulánico (30/10 pg, Oxoid Limeted, Basingstoke, Hampshire, England), Cefotaxima (30 pg, Oxoid Limeted, Basingstoke, Hampshire, England), Cefotaxima/Ac. Clavulánico (30/10pg, Oxoid Limeted, Basingstoke, Hampshire, England), Cefpodoxime (10 pg, Oxoid Limeted, Basingstoke, Hampshire, England), Cepodoxime/ác. clavulánico (10/10 pg, Oxoid Limeted, Basingstoke, Hampshire, England), siguiendo los parámetros establecidos. Se emplearon las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 35218, para el control de calidad de los discos.

Resultados

Los resultados obtenidos en la identificación por medio de la metodología descrita por Murray y col. (6) y la obtenida por el método semi automatizado mini API, fueron 100% coincidentes. Se aislaron un total de 206 enterobacterias, de las cuales 133 fueron identificadas como *Pantoea agglomerans,* 39 como *Klebsiella pneumoniae*, 12 como *Enterobacter cloacae*, 12 fueron *Escherichia coli* y 10 *Enterobacter aerogenes* (Figura 1). En los Servicios Neonatales (SN), se aislaron: 5 *Enterobacter aerogenes,* 8 *Enterobacter cloacae,* 6 *Escherichia coli*, 35 *Klebsiella pneumoniae*, y 131 cepas de *Pantoea agglomerans.* En la Unidad de Terapia Intensiva de Adultos (UTIA), se aislaron: 5 *Enterobacter aerogenes,* 4 *Enterobacter cloacae,* 6 *Escherichia coli*, 4 *Klebsiella pneumoniae,* 2 *Pantoea agglomerans.*

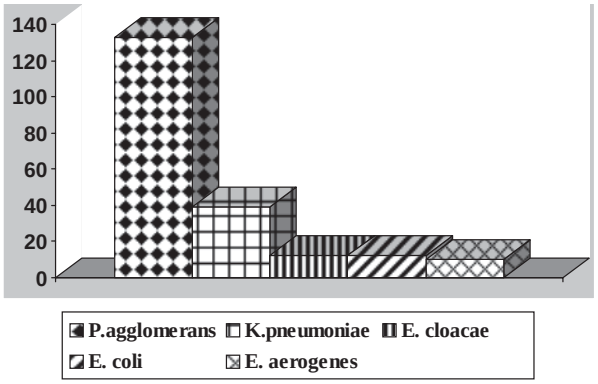


Figura1. **Frecuencia de enterobacterias aisladas en la Maternidad "Concepción Palacios" entre los meses enero-junio del 2006.**

Del total de aislamientos correspondientes a *Pantoea agglomerans,* 116 cepas (56%) resultaron positivas para las pruebas confirmatorias de producción de BLEE, de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*, fueron positivas a estas pruebas 29 (14.1%); igualmente 9 (4.4%) cepas de *Enterobacter cloacae,* 3 (1.5%) de *Escherichia coli* y 8 (3.9%) de *Enterobacter aerogenes* dieron las pruebas confirmatorias positivas (Tabla 1). Por lo tanto obtuvimos una producción de BLEE en un 80.2% de las enterobacterias aisladas entre enero y junio del 2006.

Las cepas productoras de BLEE (BLEE +) obtenidas en los SN tuvieron la siguiente distribución: 4 *Enterobacter aerogenes,* 5 *Enterobacter cloacae,* 3 *Escherichia coli,* 27 *Klebsiella pneumoniae,* y 115 *Pantoea agglomerans.* En la UTIA se obtuvo: 4 aislamientos de *Enterobacter aerogenes* productores de BLEE, 4 *Enterobacter cloacae,* 2 *Klebsiella pneumoniae,* y 1 aislamiento de *Pantoea agglomerans* (Tabla 2).

La frecuencia de resistencia asociada a aminoglicósidos y a ciprofloxacina en los aislamientos BLEE +, fueron los siguientes: en los SN se obtuvo un porcentaje de resistencia de 34% para amikacina, 84% para gentamicina y 1% para ciprofloxacina. En la UTIA se obtuvo un 80% de resistencia a amikacina, 67% a gentamicina y 100% a ciprofloxacina. Los carbapenems se mantuvieron con un 0% de resistencia tanto en los aislamientos BLEE + de los SN como de la UTIA (Tabla 3).

Tabla 1. Comparación de tipo de enterobacterias aisladas productoras de Beta Lactamasa de Espectro Expandido (BLEE).

Microorganismo	Número de aislamientos	Número de cepas productoras de BLEE	% de cepas productoras de BLEE
Pantoea agglomerans	133	116	56.3
Klebsiella pneumoniae	39	29	14.1
Enterobacter cloacae	12	9	4.4
Escherichia coli	12	3	1.5
Enterobacter aerogenes	10	8	3.9
Total	206	165	80.2

Tabla 2. Comparación de las diferentes especies de enterobacterias obtenidas en los Servicios Neonatales (SN) y la Unidad de Terapia Intensiva de Adultos (UTIA), con los aislamientos positivos para la producción de BLEE.

Microorganismo	Número de aislamientos en los SN/ Número de cepas BLEE +	Número de aislamientos en la UTIA/ Número de cepas BLEE +
Enterobacter aerogenes	5/4	5/4
Enterobacter cloacae	8/5	4/4
Escherichia coli	6/3	6/0
Klebsiella pneumoniae	35/27	4/2
Pantoea agglomerans	131/115	2/1
Total	185/154	21/11

BLEE+: Cepas productoras de Beta Lactamasa de Espectro Expandido.

Tabla 3. Porcentaje de resistencia asociada en los asilamientos productores de Beta Lactamasa de Espectro Expandido obtenidas en los Servicios Neonatales (SN) y la Unidad de Terapia Intensiva de Adultos (UTIA).

Antibiótico	% Resistencia en SN	% Resistencia en UTIA
Amikacina 30pg	34	80
Gentamicina 10pg	84	67
Ciprofloxacina 5pg	1	100
Imipenem 10pg	0	0

Discusión

Las BLEE, constituyen un factor muy importante de resistencia adquirida emergente a nivel mundial en miembros de *Enterobacteriaceae* (3-5). Esto constituye un grave problema a nivel hospitalario no solo por su rápida diseminación, sino también por el patrón fenotípico de multiresistencia que exhiben, reduciendo mucho las opciones terapéuticas (4,5,7).Para el año 2000 según datos de SENTRY existían en Latinoamérica un 46,9% de *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE, siendo México el país con mayor porcentaje con un 52%, seguido de Argentina con 51,1% y Brasil con un 50,9%, mientras que Venezuela presentaba un porcentaje del 26.2%. El aislamiento de enterobacterias productoras de BLEE en Venezuela es un problema que ha ido en aumento a nivel hospitalario (4,5). Actualmente, el Programa Venezolano de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (www.provenra.org), maneja una cifra de 63.66% de cepas de *Klebsiella pneumoniae* aisladas de hemocultivos en pacientes hospitalizados, productoras de BLEE a nivel nacional.

La Maternidad "Concepción Palacios", atiende en la ciudad de Caracas, una población importante de mujeres embarazadas, así como también los neonatos producto de dichos embarazos, la mayoría de los cuales no son controlados. Esto trae como consecuencia que exista un número significativo de nacimientos pretérmino, con problemas de bajo peso al nacer, insuficiencia respiratoria, enfermedades congénitas entre otros. Así mismo, al ser las cefalosporinas, antibióticos con muy bajos efectos secundarios y de amplio espectro de acción, han sido grandemente utilizados para el tratamiento de mujeres embarazadas y recién nacidos, lo cual pudo haber ejercido una presión selectiva en la población bacteriana intrahospitalaria, favoreciendo el incremento de cepas resistentes.

La frecuencia de la especie de *Enterobacteriaceae* varía mucho de un centro a otro, sin embargo, en estudios realizados en el interior del país (11-13) , se reporta a Klebsiella pneumoniae como la especie de mayor frecuencia, seguida por Escherichia coli. Esto también se observó en algunos estudios realizados a nivel mundial (14-16). Sin embargo, en la MCP, la mayor frecuencia fue para *Pantoea agglomerans*, un germen considerado oportunista que suele colonizar pacientes hospitalizados en los que observamos condiciones predisponentes como tratamiento antibacteriano, neutropenia, catéteres, diabetes, infusiones intravenosas, etc. (6). Además de estar ampliamente distribuido en la naturaleza (6), *Pantoea agglomerans* ha sido descrito como agente causal en casos aislados de infecciones articulares (17), hueso y tejidos blandos, como consecuencia de penetración traumática de vegetación (18-22); así como también en casos de contaminación de fluidos intravenosos (23), nutrición parenteral (24) y productos sanguíneos (25) en los que se ve involucrado un número, si se quiere reducido, de pacientes si los comparamos con los 133 aislamientos obtenidos en seis meses en la MCP.

En un estudio realizado en todo el año 2006 en El Complejo "Hospital Universitario Ruiz y Páez" en Ciudad Bolívar, se obtuvo un 50,6% de enterobacterias aisladas de hemocultivos, productoras de BLEE (11). En otro estudio llevado a cabo en Maracaibo (12), también analizaron las enterobacterias productoras de BLEE aisladas en hemocultivos pero por un período de tiempo mayor, junio 2002 a junio 2006, y encontraron una producción de BLEE de un 39,48%. En un análisis de mecanismos de resistencia realizado en el Estado Portuguesa (13), la producción de BLEE constituyó el 19,2% lo cual colocó a la producción de estas e-lactamasas como el segundo mecanismo de resistencia observado con mayor frecuencia. En la MCP, analizando un período de 6 meses, se obtuvo que el 80.2% de las enterobacterias aisladas dieron positivas las pruebas fenotípicas para la producción de BLEE, una cifra sin duda, alarmante, si la comparamos con los reporte citados y aún mas si tomamos en cuenta que dichos aislamientos se obtuvieron principalmente de muestras de hemocultivos. Este quizá sea el reporte del porcentaje más elevado que haya sido informado en Venezuela.

Los genes que codifican para la producción de BLEE se encuentran localizados en megaplásmidos (>100 KDa), que frecuentemente codifican resistencia también a otros antimicrobianos, tales como aminoglicósidos, cloranfenicol, tetraciclinas y trimethoprim-sulfametazol. Esto determina que las enterobacterias productoras de BLEE frecuentemente presentan resistencia asociada a dichos antibióticos (26). En este estudio se demostró una elevada resistencia a aminoglicósidos tanto en el SN como en los aislamientos obtenidos en el área de UTIA. Sin embargo, nos llama la atención la diferencia de resistencia asociada a ciprofloxacina que existe entre el área de SN (1%) y el de UTIA (100%). Esto probablemente se deba a la diferencia en el uso de quinolonas que existe entre ambas áreas ya que en los neonatos, este grupo de antibióticos no es utilizado. Los carbapenemes en éste grupo de *Enterobacteriaceae*, se mantienen como los antibióticos de elección.

Por último, es de hacer notar que a pesar de que la mayor frecuencia de enterobacterias productoras de BLEE en la MCP están presentes en el área de SN, si bien concuerda con las condiciones predisponentes que poseen los pacientes de dicha área, tales como, bajo peso al nacer, insuficiencia respiratoria, uso de catéter, alimentación parenteral, etc., el hecho de que las cifras sean tan elevadas y que se mantengan en el tiempo, hace sugerir que existe un problema de transmisión continua en las que el personal juegan un papel primordial y que urge tomar medidas de control efectivas tales como el uso de barreras de contacto (aislamiento del paciente, lavado estricto de manos, uso de alcohol isopropílico), capacitación permanente del personal, indicación de cultivos de control epidemiológico y una vigilancia activa y segura por parte de los comités de control de infecciones.

Referencias

1. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical and Laboratory Standards Institute. January 2006. M100-S16. Vol. 26 N°3.
2. Bradford P.A. Extended-spectrum â-lactamases en the 21st century: characterization, epidemiology, and detecction of this Important Resistance Threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14:933-951.
3. Jacoby GA and LS Munoz-Price. The new â-lactamases. N Engl J Med. 2005; 352:380-391.
4. Torres L, Gagliotta V. â-lactamasas de Espectro Expandido en Enterobacterias aisladas en Centros de Salud de Caracas. RSVM 2006; 2:80-84.
5. Comegna M, Guzmán M, Carmona O, Molina M. y Grupo Colaborativo del Grupo Venezolano de Resistencia Bacteriana. Resistencia Bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela. Nuevos hallazgos. RSVM 2000; 20(1):58-63.
6. Quintiliani R, Sahm D, Courvalin P. Mechanisms of Resistance to Antimicrobial Agents en: Murray PR, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Yolken R: Manual of Clinical Microbiology. Washington D.C.: ASM Press, 1999. p. 1505.
7. Paterson DL and Bonomo RA. Extended-spectrum â-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 18:657-686.
8. Rossi F, Andreazzi D. Resistencia Bacteriana. Interpretando el antibiograma. Sao Paulo: Atheneu, 20065:65-91.
9. Bauer A, Kirby W, Sherris J, Turk M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. Am J Clin Pathol.1996;45:439-496.
10. Jarlier V, Nicolas M, Fournier G and Philippon A. Extended broad-spectrum betalactamases conferring transferable resistance to newer B-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988; 10: 867-878.

11. Senmache L, Guevara A. Resistencia a los antimicrobianos en Enterobacterias Productoras de BLEE aisladas de hemocultivos, en el Complejo "Hospital Universitario Ruiz y Páez" Ciudad Bolívar, Estado Bolívar. Enero-diciembre 2006. XVI Congreso de la Sociedad Venezolana de Medicina Interna. Año Cincuentenario. Maracaibo, Venezuela. p. 1
12. Sandrea T, Paz A. Enterobacterias productoras de â-lactamasas de Espectro Extendido asiladas de hemocultivos en un Hospital Universitario de Venezuela. Kasmera 2007; 35(1):15-25.ISSN 0075-5222.
13. Gómez A, Maurera T. Mecanismos de Resistencia a los antimicrobianos en el Hospital Universitario Dr. Miguel Oraá de Guanare, Estado Portuguesa, Venezuela. Rev Méd Ext Portuguesa 2007; 1:107-115.
14. Branger C, Lesimple A, Brown B, Berry P and Lambert N. Long term investigation of the clonal dissemination of *K. pneumoniae* isolater producting extended-spectrum B-lactamases in a university hospital. J Med Microbiol. 1998; 47:210-219.
15. Wu T, Chia J, Su I, Huo A, Chu C, Chiu C. Dissemination of Extended-Spectrum B-Lactamases producing *Enterobacteriaceae* in pediatric Intesive care Units. J Clin Microbiol. 2003; 41(10):4836-38.
16. Daoud J and Hakime N. Prevalence and susceptibility patterns of Extended-Spectrum B-Lactamases producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a general university hospital in Beirut. Rev Esp Quimioterap. 2003; 16(2):233-38.
17. Miranda E, García I, Calmet J, Ardanuy C, Giné J. Artritis séptica de rodilla por *Pantoea agglomerans*: caso clínico. Rev Esp Cir Osteoarti. 2005; 40: 185-188.
18. De Champs C, Le Seaux S, Dubost J, Boisgard S, Sauvezie B and Sirot J. Isolation of *Pantoea agglomerans* in two cases of septic monoarthritis after plant thorn and wood silver injuries. J Clin Microbiol. 2000; 38:460-461.
19. Flatauer FE and Khan MA. Septic arthritis caused by *Enterobacter agglomerans*. Arch. Intern. Med. 1978; 138:788.
20. Kratz A, Greenberg D, Barki Y, Cohen E and Lifshitz M. *Pantoea agglomerans* as a cause of septic arthritis after palm tree thorn injurie; case report and literature review. Arch Dis Child. 2003; 88:542-544.
21. Ulloa-Gutierrez R, Moya T and Avila-Aguero ML. *Pantoea agglomerans* and thorn-associated suppurative arthritis. Pediatr Infect Dis J. 2004; 23:690.
22. Vincent K and Szabo RM. *Enterobacter agglomerans* osteomyelitis of the hand from a rose thorn. A case report. Orthopedics 1988; 11:465-467.
23. Matsaniotis NS, Siriopoulou VP, Theodoridou MC, Tzanetou KG and Mostrou GI. Enterobater sepsis in infants and children due to contaminated intravenous fluids. Infect Control 1984; 5:471-477.
24. Hbsah H, Zeehaida M, Van Rostenberghe H, Noraida R, Wan Pauzi WI, Fatimah I, Rosliza AR, Nik Sharimah N Y and Maimunah H. An outbreak of *Pantoea spp*. In a neonatal intensive care unit secondary to contaminated parenteral nutrition. J Hosp Infect. 2005;61:213-218.
25. Alvarez FE, Rogge KJ, Terrand J and Lichtiger B. Bacterial contamination of cellular blood components. A retrospective review at a large cancer center. Ann Clin Lab Sci. 1995; 25:283-290.
26. Pujol M, Peña C. El significado clínico de las â-lactamasas de Espectro Expandido. Enfermedades Infecciosas: Microbiol Clin. 2003:21(2)69-71.