



**FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA**

---

**FACTORES DE RIESGO DE  
COLONIZACIÓN INTESTINAL POR  
ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS  
DE CARBAPENEMASAS AL INGRESO  
EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS  
CRÍTICOS.**

---

**TESIS DOCTORAL**

**Patricia Salgado Aranda**

**Madrid, 2017**

“Si he logrado ver más lejos, ha sido porque he  
subido a hombros de gigantes”.

**Isaac Newton**

## **AGRADECIMIENTOS**

Muchas personas han contribuido directa o indirectamente a la elaboración de esta tesis. En particular, quiero expresar mi gratitud a mis directores de tesis. Al Profesor Fernando Gilsanz, por todo el tiempo y apoyo brindado en esta tesis. Por concederme la posibilidad de formar parte del Servicio de Anestesia del Hospital la Paz donde cada día continúo creciendo como profesional. Al Doctor Emilio Maseda por haber confiado en mí, por darme un proyecto con el que ilusionarme y por haber puesto a mi disposición todos los medios necesarios.

A mis compañeros de la reanimación por transmitirme su compromiso, entusiasmo y pasión por lo que hacen. Por permitirme formar parte de esta pequeña familia.

A Jesús, por su ayuda desinteresada en este proyecto. Gracias por el tiempo invertido y por tu paciencia infinita.

A mis padres, gracias por todo. Por transmitirme valores como el esfuerzo, la perseverancia y la humildad. Por demostrarme que los límites son únicamente los que yo me marco.

A mis hermanos, Sergio y Ricardo. Por estar ahí, por su apoyo constante e incondicional. Por responder a mis llamadas a deshoras y tener siempre tiempo y las palabras adecuadas. Gracias por vuestra comprensión.

A Jaime, por formar este equipo, por acompañarme y apoyarme en cada decisión y objetivo. Gracias por tu generosidad, sin ella no habría podido dar fin a esta tesis.

## RESUMEN

## INTRODUCCIÓN

Las enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) se han extendido a nivel mundial constituyendo un problema de salud pública. No hay ninguna duda de que los antibióticos han revolucionado la medicina en muchos aspectos, pero la mala *praxis*, el uso inadecuado y la administración de dosis subóptimas han ayudado a la aparición de microorganismos multirresistentes.

Es probable, que la presión de selección causada por el uso de millones de toneladas de antibióticos en los últimos 80 años, tanto en la ganadería como en el uso humano, junto con los residuos hospitalarios, sean los principales precursores de resistencias bacterianas. Un ejemplo claro de esta evolución de la resistencia bacteriana son las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Con el fin de combatir las infecciones producidas por bacterias gramnegativas productoras de BLEE se utilizaron los carbapenems. Desde su aparición, se convirtieron en el principal antibiótico para combatir las infecciones nosocomiales, tanto *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* como *Acinetobacter baumannii*. Como consecuencia directa del uso creciente de los carbapenems aparecieron microorganismos con capacidad para producir enzimas con actividad carbapenemasa.

Las enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) se han extendido por todo el mundo. Cada año en Estados Unidos, al menos 2 millones de personas adquieren infecciones graves por bacterias resistentes. Como consecuencia directa, se registran anualmente en Europa 25.000 muertes. Las EPC, junto a las bacterias productoras de BLEE, están comenzando a ser uno de los microorganismos más

frecuentemente aislados en las unidades de cuidados críticos. Su amplia difusión junto con la gran resistencia y nuestro limitado arsenal terapéutico hacen a estas enterobacterias uno de los patógenos más peligrosos, convirtiéndose en una preocupación constante tanto para los pacientes como para los profesionales. Diferentes estudios han estudiado la prevalencia de portadores de *Klebsiella pneumoniae* resistente a las carbapenemasas (KPC y VIM principalmente), pero se sabe muy poco de la prevalencia de otras enterobacterias y cuáles son los factores de riesgo implicados

## **METODOS**

Se realizó un estudio retrospectivo, observacional, casos y controles desde enero de 2012 a diciembre de 2013, que analizó los datos de todos los pacientes mayores de 14 años ingresados durante más de 24 horas en la Unidad de Cuidados Intensivos Quirúrgicos (UCI-Q) del Hospital Universitario La Paz (Madrid). Se obtuvo una muestra rectal en las primeras 24 horas mediante un hisopo de todos los pacientes ingresados en la unidad. Los pacientes caso se definieron como pacientes con o sin signos o síntomas de infección en los que se hubiera aislado EPC en la muestra rectal recogida al ingreso. Se definieron como pacientes control aquellos pacientes sin signos o síntomas de infección y sin aislamiento de EPC. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital La Paz.

Se revisaron las historias clínicas tanto en formato papel como electrónica, se obtuvieron datos demográficos (edad, sexo, lugar de residencia...) y clínicos (condiciones subyacentes), y evaluaron las escalas de gravedad SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*), SAPS (*Simplified Acuted Physiology Score*) y APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*). Se registró el consumo de

antibióticos durante más de 3 días en los últimos seis meses, hospitalizaciones en los últimos 12 meses, cirugía intraabdominal y/o urgente en los 30 días anteriores y sala de hospitalización y número de días de hospitalización antes de la admisión en la UCI-Q. Se registraron datos microbiológicos de los hisopos rectales recogidos en las primeras 24 horas de admisión en la UCI-Q siguiendo nuestra rutina de rastreo a todos los pacientes ingresados en la UCI-Q.

Las muestras rectales fueron enviadas inmediatamente al servicio de microbiología para el cultivo en placas de agar McConkey que contenían 4mg/l de cefotaxima. La identificación se realizó utilizando el sistema MALDI-TOF (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz). Los microorganismos productores de BLEE y carbapenemasas fueron confirmados fenotípicamente con el método de doble disco con cefotaxima, ceftazidima, cefotaxima/clavulanato y ceftazidima/clavulanato y prueba modificada de Hodge utilizando discos de imipenem, meropenem y ertapenem. Se utilizaron *Polymerase Chain Reaction* (PCR) con *primers* específicos para la detección de genes blaKPC, blaVIM, blaIMP, blaNDM y blaOXA-4816-18 y otros genes de lactamasa (TEM, SHV, CTX-M y OXA-1).

## **RESULTADOS**

Un total de 254 pacientes (65,5 ± 15,5 años, 63,4% varones) fueron ingresados en la UCI-Q durante el periodo del estudio; Cuarenta y un pacientes (16,1%) estaban colonizados por EPC (cinco pacientes mostraron coexistencia de dos cepas productoras de carbapenemasas). Se encontró una fuerte asociación entre la producción de BLEE y carbapenemasas ( $X^2 = 153,488$ ,  $p < 0,0001$ ); el porcentaje de pacientes colonizados por microorganismos productores de BLEE fue

significativamente mayor entre los pacientes colonizados por EPC (85,4% vs. 4,7%,  $p < 0,001$ ).

Se encontraron 41 aislamientos de EPC, la mayoría de los cuales fueron *Klebsiella pneumoniae* (39 de 46; 95,12%). La carbapenemasa tipo OXA-48 fue la más frecuente (31 de 41; 75,6%). En veintidós de estos 31 aislamientos (71,0%) de *Klebsiella pneumoniae* productora de OXA-48 se pudo secuenciar el genoma. De ellos, 13 (59,1%) fueron ST11, siete ST405 (31,8%) y dos ST323 (9,1%). El perfil de los genes  $\beta$ -lactamasa fue diferente en ST11 (TEM-116, SHV-11 y OXA-1) y ST405 (TEM-1, SHV-76, CTX-M-15 y OXA-1)

En cuanto a los datos demográficos, comorbilidades y gravedad, cuatro pacientes vivían en residencia, y sólo uno entre los colonizados por EPC. El porcentaje de pacientes con insuficiencia respiratoria en el ingreso en la UCI-Q o insuficiencia renal crónica fue significativamente mayor para los colonizados por EPC al igual que las puntuaciones de las escalas de gravedad (SOFA, SAPS II y APACHE II).

Las hospitalizaciones, la admisión previa a la Unidad de Cuidados Críticos (UCI) / UCI-Q y la endoscopia digestiva / biliar en los últimos 12 meses, así como la cirugía intraabdominal en los 30 días anteriores fueron significativamente más frecuentes en los pacientes colonizados por EPC. Así mismo, el consumo total de antibióticos en los últimos seis meses fue significativamente más común en los pacientes colonizados por EPC.

En el análisis multivariante ( $R^2 = 0,309$ ,  $p < 0,001$ ), la colonización rectal por EPC se asoció con la administración previa de cefalosporinas de 3ª y 4ª generación



(OR = 27,96, IC95% = 6,88, 113,58, p <0,001),  $\beta$ -lactámicos/inhibidores de la  $\beta$ -lactamasa (OR = 11,71, IC del 95% = 4,51, 30,43, p <0,001), cirugía abdominal (OR = 6,33, IC del 95% = 2,12, 18,89, p = 0,001) y endoscopia digestiva / biliar previa = 3,88, IC del 95% = 1,56, 9,67, p = 0,004).

## **CONCLUSIÓN**

Se asociaron como factores de riesgo para la colonización rectal por enterobacterias productoras de carbapenemasa, la administración previa de cefalosporinas y de betalactámicos/inhibidores de la betalactamasa, los procedimientos invasivos endoscópicos y la cirugía abdominal. Un 39% de los pacientes colonizados por enterobacterias productoras de carbapenemasas evolucionaron hacia infección por la misma cepa de enterobacteria productora de carbapenemasa. Se encontró relación entre la colonización por enterobacterias productoras de carbapenemasas tipo OXA-48 y betalactamasas de espectro extendido. La coselección de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo OXA-48 y betalactamasas de espectro extendido se asoció a la exposición previa a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación como factores de riesgo.

## ABSTRACT

## INTRODUCTION

Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) have spread worldwide as a public health problem. There is no doubt that antibiotics have revolutionised medicine in many ways, but bad *practices*, misuse and the administration of suboptimal doses have led to the emergence of multiresistant microorganisms.

It is likely that the selection pressure caused by the use of millions of tons of antibiotics in the last 80 years, both in livestock and in humans, together with hospital waste, are the main reasons for bacterial resistance. A clear example of this evolution of bacterial resistance are extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL). In order to combat infections caused by gram-negative bacteria producing ESBL, carbapenems were used. Since appearing, they have become the main antibiotic to combat nosocomial infections, both *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. As a direct consequence of the increasing use of carbapenems, microorganisms with the capacity to produce carbapenemase enzymes have emerged.

Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) have spread all over the world. Every year in the United States, at least 2 million people suffer from serious infections caused by resistant bacteria. As a direct consequence, 25,000 deaths are recorded annually in Europe. CPE, along with ESBL-producing bacteria, are becoming one of the most frequently isolated microorganisms in critical care units. Their widespread diffusion, along with their significant resistance and our

limited therapeutic arsenal, make these enterobacteriaceae one of the most dangerous pathogens and they are becoming a constant concern for both patients and professionals. Different studies have studied the prevalence of *Klebsiella pneumoniae*, which is resistant to carbapenemase (KPC and VIM mainly), but very little is known about the prevalence of other enterobacteriaceae and the risk factors involved

## **METHODS**

A retrospective, observational, controlled case study was conducted between January 2012 and December 2013, which analysed the data of all patients over the age of 14 admitted for more than 24 hours to the Surgical Intensive Care Unit (SICU) at the Hospital Universitario La Paz (Madrid). A rectal swab sample was taken in the first 24 hours from all patients admitted to the unit. Patients were categorised as patients with or without signs or symptoms of infection in which CPE had been isolated in the rectal sample collected at admission. Patients with no signs or symptoms of infection and without CPE isolation were categorised as control patients. The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital La Paz.

Clinical records were reviewed in both paper and electronic formats, demographic data (age, sex, place of residence, etc.) and clinical data (underlying conditions) were obtained, and SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*), SAPS (*Simplified Acuted Physiology Score*) and APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*) severity scales were checked. Consumption of antibiotics for more than 3 days in the last six months was recorded, as well as hospitalisations in the last 12 months, intra-abdominal and/or urgent surgery in the previous 30 days, and hospital room and the number of days hospitalised before admission to the

SICU. Microbiological data from the rectal swabs collected within the first 24 hours of admission to the SICU were recorded following a routine screening of all patients admitted to the SICU.

Rectal samples were immediately sent to the microbiology lab for cultures on McConkey agar plates containing 4 mg/l of cefotaxime. Identification was performed using the MALDI-TOF system (matrix-assisted laser desorption/ionisation). Microorganisms producing ESBL and carbapenemase were phenotypically confirmed with the double disc method with cefotaxime, ceftazidime, cefotaxime/clavulanate and ceftazidime/clavulanate and a modified Hodge test using imipenem, meropenem and ertapenem discs. A *Polymerase Chain Reaction* (PCR) was used with *primers* specifically suited for the detection of blaKPC, blaVIM, blaIMP, blaNDM and blaOXA-4816-18 genes and other lactamase genes (TEM, SHV, CTX-M and OXA-1).

## RESULTS

A total of 254 patients (65.5 ± 15.5 years, 63.4% males) were admitted to the SICU during the study period; forty-one patients (16.1%) were infected with CPE (five patients showed coexistence of two carbapenemase-producing strains). A strong association was found between the production of ESBL and carbapenemase ( $X^2 = 153,488$ ,  $p < 0.0001$ ); the percentage of patients infected with ESBL-producing microorganisms was significantly higher among patients infected with CPE (85.4% vs. 4.7%,  $p < 0.001$ ).

We found 41 CPE isolates, the majority of which were *Klebsiella pneumoniae* (39 of 46; 95.12%). Carbapenemase type OXA-48 was the most common (31 of 41;

75.6%). In twenty-two of these 31 isolated cases (71.0%) of *Klebsiella pneumoniae*, the producer of OXA-48 could sequence the genome. Of these, 13 (59.1%) were ST11, seven ST405 (31.8%) and two ST323 (9.1%). The genetic profile  $\beta$ -lactamase was different in ST11 (TEM-116, SHV-11 and OXA-1) and ST405 (TEM-1, SHV-76, CTX-M-15 and OXA-1)

As for the demographic data, comorbidities and severity, four patients were residents, and only one of them was infected with CPE. The percentage of patients with respiratory difficulties or chronic renal failure upon admission to the SICU was significantly higher for those infected with CPE than those on the severity scales (SOFA, SAPS II and APACHE II).

Hospitalisations, previous admission to the Intensive Care Unit (ICU) / SICU and digestive/biliary endoscopy in the last 12 months, as well as intra-abdominal surgery in the previous 30 days, were significantly more frequent in patients infected with CPE. Also, the total consumption of antibiotics in the last six months was significantly higher in patients infected with CPE.

In the multivariate analysis ( $R^2 = 0.309$ ,  $p < 0.001$ ), rectal colonisation by CPE was associated with prior administration of 3rd- and 4th-generation cephalosporins (OR = 27.96; 95% CI = 6.88, 113.58,  $p < 0.001$ ),  $\beta$ -lactamics /  $\beta$ -lactamase (OR = 11.71; 95% CI = 4.51, 30.43,  $p < 0.001$ ), abdominal surgery (OR = 6.33; 95% CI = 2.12, 18.89,  $p = 0.001$ ) and previous digestive / biliary endoscopy = 3.88, 95% CI = 1.56, 9.67,  $p = 0.004$ ).

## CONCLUSION

Risk factors for rectal colonisation by carbapenemase-producing enterobacteriaceae: Prior administration of cephalosporins and beta-lactams / beta-lactamase inhibitors, invasive endoscopic procedures and abdominal surgery were associated as risk factors. 39% of the patients infected with carbapenemase-producing enterobacteriaceae suffered infections caused by the same carbapenemase-producing enterobacterial strain. A relationship between colonisation by carbapenemase-producing enterobacteriaceae type OXA-48 and extended spectrum beta-lactamase were found. The *Klebsiella pneumoniae* production of carbapenemase type OXA-48 and extended spectrum beta-lactamases was associated with prior exposure to third- and fourth-generation cephalosporins as risk factors.

# ÍNDICE

RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	XIV
ÍNDICE DE TABLAS.....	XXI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XXII
LÍSTA DE ABREVIATURAS.....	XXIII
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
1.1. IMPORTANCIA DE LA MULTIRRESISTENCIA.....	2
1.1.1. <i>Evolución</i> .....	3
1.2. FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.....	5
1.2.1. <i>Peculiaridades de las bacterias gramnegativas</i> .....	5
1.2.2. <i>Características de la membrana externa de las enterobacterias</i> .....	8
1.3. CLASIFICACIÓN DE LAS CARBAPENEMASAS.....	9
1.3.1. <i>Carbapenemasas clase A</i> .....	11
1.3.2. <i>Carbapenemasas clase B</i> .....	14
1.3.3. <i>Carbapenemasa clase D</i> .....	17
1.4. SITUACIÓN ACTUAL.....	19
<b>2. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
<b>4. MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
4.1. ÉTICA.....	30
4.2. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	30
4.3. POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	31
4.4. VARIABLES A ESTUDIAR.....	32
4.5. MATERIAL UTILIZADO.....	34
4.5.1. <i>Criterio de gravedad</i> .....	36
4.6. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO.....	42
4.6.1. <i>Recogida de muestra</i> .....	42
4.6.2. <i>Selección de medios de cultivo y condiciones de incubación</i> .....	42
4.6.3. <i>Pruebas de confirmación</i> .....	43
4.6.4. <i>Detección fenotípica de las diferentes carbapenemasas</i> .....	45
4.6.5. <i>Técnicas moleculares</i> .....	47
4.7. ESTADÍSTICA.....	49
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
5.1. POBLACIÓN A ESTUDIO. CARACTERÍSTICAS.....	51
5.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVOS.....	52



5.2.1.	<i>Características demográficas de la población</i>	52
5.2.2.	<i>Características clínicas de la muestra</i>	53
5.2.3.	<i>Tratamiento antibiótico previo</i>	56
5.3.	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES COLONIZADOS POR EPC.	58
5.3.1.	<i>Características demográficas de los pacientes colonizados</i>	58
5.3.2.	<i>Características microbiológicas y asociación con colonización con BLEE.</i>	59
5.3.3.	<i>Comparación de factores de riesgos entre pacientes colonizados frente a los no colonizados</i>	61
5.3.4.	<i>Diferencias en la administración del tratamiento en los pacientes colonizados frente a los no colonizados</i>	66
5.3.5.	<i>Prevalencia de infección en los pacientes colonizados</i>	68
5.4.	FACTORES DE RIESGO PARA COLONIZACIÓN POR EPC	69
<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>71</b>
6.1.	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES COLONIZADOS POR EPC. PREVALENCIA DE PORTADORES RECTALES	71
6.2.	FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS EN EL PACIENTE CRÍTICO	73
6.3.	EFECTOS DEL TRATAMIENTO EMPÍRICO INADECUADO	75
6.4.	NECESIDAD DE MEDIDAS DE PREVENCIÓN	77
6.5.	LIMITACIONES	79
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>82</b>
<b>8.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>84</b>
	<b>ANEXO I. APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ETICA DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA.</b>	<b>95</b>
	<b>ANEXO II. PUBLICACIONES A LOS QUE HA DADO LUGAR EL PRESENTE TRABAJO</b>	<b>96</b>

## INDICE DE TABLAS

TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE CARBAPENEMASAS .....	19
TABLA 2. ESCALA DE GRAVEDAD APACHE II. PUNTUACIÓN FISIOLÓGICA (A) Y PUNTUACIÓN DE LA EDAD DEL PACIENTE (B).....	38
TABLA 3. ESCALA DE GRAVEDAD APACHE II. PUNTUACIÓN DEL ESTADO DE SALUD PREVIO (C) .....	39
TABLA 4. ESCALA DE GRAVEDAD SAPS II .....	40
TABLA 5. ESCALA DE GRAVEDAD SOFA .....	41
TABLA 6. CORTE DE CRIBADO EUCAST Y CLSI PARA LA DETECCIÓN DE EPC .....	44
TABLA 7. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN. ....	52
TABLA 8. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA MUESTRA. ....	54
TABLA 9. ESCALAS DE GRAVEDAD AL INGRESO. ....	55
TABLA 10. HOSPITALIZACIÓN Y EVENTOS QUIRÚRGICOS/INVASIVOS. ....	56
TABLA 11. TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO PREVIO.....	57
TABLA 12. DIFERENCIA DE GÉNERO ENTRE PACIENTES COLONIZADOS POR EPC Y NO COLONIZADOS.....	58
TABLA 13. ESPECIES DE CARBAPENEMASAS Y BLEE ENCONTRADAS EN 41 PACIENTES COLONIZADOS POR EPC.....	60
TABLA 14. TABLA DE CONTINGENCIA DE PACIENTES COLONIZADOS POR EPC Y POR BLEE.....	61
TABLA 15. COMPARACIÓN DE FACTORES DE RIESGO DE LOS PACIENTES COLONIZADOS FRENTE A LOS NO COLONIZADOS .....	62
TABLA 16. COMPARACIÓN DE TIEMPO DE HOSPITALIZACIÓN Y EVENTOS QUIRÚRGICOS/INVASIVOS ENTRE PACIENTES COLONIZADOS Y NO COLONIZADOS.....	65
TABLA 17. PACIENTES EN LOS QUE SE LE HABÍAN ADMINISTRADO ANTIBIÓTICOS LOS SEIS MESES PREVIOS AL INGRESO Y NÚMERO MÁXIMO DE ANTIBIÓTICOS ADMINISTRADOS AL DÍA. ....	67
TABLA 18. COMPARACIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO PREVIO AL INGRESO ENTRE LOS PACIENTES COLONIZADOS POR EPC Y LOS NO COLONIZADOS .....	68
TABLA 19. COMPARACIÓN ENTRE LA POBLACIÓN A ESTUDIO Y REGISTROS SIMILARES DE PACIENTES COLONIZADOS POR EPC.....	72
TABLA 20. COMPARACIÓN DE FACTORES DE RIESGO DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO Y REGISTROS SIMILARES. ....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ESQUEMA DE LA PARED CELULAR DE UNA BACTERIA GRAMNEGATIVA.....	6
FIGURA 2. CLASIFICACIÓN DE ÁMBLER.....	11
FIGURA 3. ESCHERICHIA COLI. PORCENTAJE DE AISLAMIENTOS CON RESISTENCIA COMBINADA A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACIÓN, FLUORQUINOLONAS Y AMINOGLUCÓSIDOS .....	20
FIGURA 4. KLEBSIELLA PNEUMONIAE. PORCENTAJE (%) DE AISLAMIENTO CON RESISTENCIA A CELFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACIÓN .....	21
FIGURA 5. AISLAMIENTOS DE EPC (K. PNEUMONIAE Y E. COLI).....	22
FIGURA 6. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS.....	35
FIGURA 7. ALGORITMO DE ACTUACIÓN PARA LA CONFIRMACIÓN DE MECANISMOS DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS CARBAPENÉMICOS EN ENTEROBACTERIAS.....	47
FIGURA 8. SELECCIÓN DE PACIENTES.....	51
FIGURA 9. DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES POR GÉNERO.....	53
FIGURA 10. DIAGRAMA DE BARRAS. DISTRIBUCIÓN DE LAS PATOLOGÍAS PREVIAS AL INGRESO.....	54
FIGURA 11. PROPORCIÓN DE PACIENTES COLONIZADOS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS.....	59
FIGURA 12. DIAGRAMA DE CAJAS. COMPARACIÓN DE LA ESCALA DE GRAVEDAD SOFA EN LOS PACIENTES COLONIZADOS Y LOS NO COLONIZADOS POR EPC. ....	63
FIGURA 13. DIAGRAMA DE CAJAS. COMPARACIÓN DE LA ESCALA DE GRAVEDAD SAPS II EN LOS PACIENTES COLONIZADOS Y LOS NO COLONIZADOS POR EPC. ....	63
FIGURA 14. DIAGRAMA DE CAJAS. COMPARACIÓN DE LA ESCALA DE GRAVEDAD APACHE II EN LOS PACIENTES COLONIZADOS Y LOS NO COLONIZADOS POR EPC.....	64
FIGURA 15. RELACIÓN DE PACIENTE PORTADORES DE EPC FRENTE A LOS PACIENTES QUE HAN RECIBIDO O NO ANTIBIÓTICOS EN LOS ÚLTIMOS SEIS MESES ANTES DEL INGRESO EN UCI-Q. ....	66
FIGURA 16. PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR EPC.....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AIM:** Adelaide IMipenmase
- AmpC:** Cefamicinasas
- APACHE:** *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*
- BLEE:** Betalactamasas de espectro extendido
- CDC:** *Centers for Disease Control and Prevention*
- CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria
- CRs:** Regiones comunes
- CTX-M:** Cefotaximasas
- DIM:** Dutch imipenemase
- DM:** Diabetes Mellitus
- ECDC:** *European Centre for Disease Prevention and Control*
- EDTA:** Ácido etilendiaminotetraacético
- EPC:** Enterobacterias productoras de carbapenemasas
- EPOC:** Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
- EUCAST:** *European Committe on Antimicrobial Suscetibility*
- GCS:** *Glasgow Coma Scale (Escala de coma de Glasgow)*
- GES:** *Guiana extended spectrum*
- GIM:** *German imipenemase*
- GCA:** Gasometría arterial
- HULP:** Hospital Universitario La Paz
- ICC:** Insuficiencia Cardíaca Congestiva
- IMP:** *Active on imipenem*
- IRC:** Insuficiencia Renal Crónica

**KHM:** *Kyorin Healt Science Metalo- $\beta$ -lactamase*

**KPC:** *Klebsiella pneumoniae carbapenemasa*

**LPS:** Lipopolisacárido

**MALDI:** *Matrix Assisted Laser Desorption-Ionization* (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz)

**MBLs:** Metalobetalactamasas

**MLST:** *Multilocus sequence typing*

**NDM** *New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase*

**NMC** *Not metalloenzyme carbapenemase*

**NYHA:** *New York Heart Association*

**OXA:** *Oxacillin-hydrolyzing*

**PBP:** *Penicillin Binding Proteins* (Proteínas de unión a la penicilina)

**PCR:** *Polimerase Chain Reaction* (Reacción en cadena de la polimerasa)

**PG:** Peptidoglucano

**Pr:** Valor de mortalidad hospitalaria

**R:** Resistente

**Rpm:** Revoluciones por minuto

**S:** Sensible

**SAPS:** *Simplified Acuted Physiology Score*

**SIM:** *Seoul imipenemase*

**SME:** *Serratia marcescens enzyme*

**SOFA:** *Sequential Organ Failure Assessment*

**SPM:** *Sau Paulo metalo- $\beta$ -lactamasa*

**Spp:** Especie

**ST:** *Sequence type* (Secuencia tipo)

**UCI:** Unidad de Cuidados Intensivos

**UCI-Q:** Unidad de Cuidados Intensivos Quirurgicos

**UFC:** Unidades Formadoras de Colonias

**VIH:** Virus de Inmunodeficiencia Humana

**VIM:** *Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase*

# INTRODUCCIÓN

## 1. INTRODUCCIÓN.

### 1.1. IMPORTANCIA DE LA MULTIRRESISTENCIA.

El exponencial aumento en los últimos años de microorganismos multirresistentes se ha convertido en un problema de salud pública. La disminución de la eficacia en el tratamiento de las infecciones comunes se ha acelerado con la llegada de cepas de *Enterobacteriaceae* resistentes a los carbapenems. En los países desarrollados, la menor eficacia de los antibióticos de primera línea ha contribuido a la presión de selección, forzando un cambio a antimicrobianos más caros y de amplio espectro. Sin embargo, el mayor desafío se encuentra en los países en vías de desarrollo, donde la carga de las enfermedades infecciosas es alta y los pacientes con infecciones resistentes son incapaces de costearse cualquier antibiótico de segunda línea. La falta de recursos, la higiene, el abastecimiento de agua, los conflictos civiles y el aumento de personas inmunodeprimidos por Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), facilitan la rápida evolución y diseminación de los microorganismos multirresistentes (1).

No hay ninguna duda que los antibióticos han revolucionado la medicina en muchos aspectos, pero la mala *praxis*, el uso inadecuado, la administración de dosis subóptimas han ayudado a la selección darwiniana, incluso algunos autores se atreven a definirla como la “*era postantibiótica*”.



### 1.1.1. EVOLUCIÓN.

Para entender la evolución de la multirresistencia actual, es necesario remontarnos hasta la introducción de los primeros antimicrobianos eficaces. Un ejemplo clásico es el descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming en 1928. Fueron dos miembros del equipo investigador de A. Fleming los que antes de que fuera lanzada al mercado en 1940, identificaron una penicilinas bacteriana. El antimicrobiano ya se utilizaba ampliamente, cuando las cepas resistentes, capaces de inactivarla, se hicieron cada vez más frecuentes. Se intentó modificar químicamente, con el fin de prevenir la escisión mediada por las penicilinasas ( $\beta$ -lactamasas) (2). Hoy en día sabemos que un gran número de genes resistentes (genes R) son componentes de las poblaciones microbianas naturales (2). Por lo tanto, la resistencia adquirida a los antibióticos es el resultado de la capacidad adaptativa normal, y no necesariamente requiere la adquisición de un nuevo material genético.

Es probable, que la presión de selección causada por el uso de millones de toneladas de antibióticos en los últimos 80 años, tanto en la ganadería como en el uso humano, junto con los residuos hospitalarios, sean los principales precursores de resistencias bacterianas. Un ejemplo claro de esta evolución de la resistencia bacteriana son las  $\beta$ -lactamasas. Los suministros de agua potable pueden contener *Escherichia coli* altamente resistente tanto en países en vías de desarrollo como industrializados y se han aislado en los animales domésticos bacterias multirresistentes similares a las humanas. Se han identificado hasta 1000  $\beta$ -lactamasas capaces de inactivar estos antibióticos (3).

En general, las bacterias gramnegativas tienen una elevada capacidad de adaptación a cualquier medio debido a la combinación de varios mecanismos de defensa. Es posible que el origen de las  $\beta$ -lactamasas se encontrara en la evolución a partir de las proteínas fijadoras de penicilinas (*Penicilin Binding Proteins*- PBPs) ancestrales encargadas de la biosíntesis y mantenimiento del peptidoglucano (PG) bacteriano. Aunque originalmente existían algunas discrepancias en la evolución de las  $\beta$ -lactamasas de clase B, debido a que dependen del zinc y no poseen un átomo de serina como el resto de las  $\beta$ -lactamasas, se observó que las enzimas compartían en común dos subdominios con un pliegue similar. Se han encontrado cambios que podrían haber dado lugar a la adquisición de mecanismos propios de las  $\beta$ -lactamasas (4).

Con el fin de combatir las infecciones de las bacterias gramnegativas productoras de BLEE (Betalactamasas de Espectro Extendido) se utilizaron los carbapenems. Desde su aparición, se convirtieron en el principal antibiótico para combatir las infecciones nosocomiales, tanto *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas auruginosa* como *Acinetobacter baumannii* (5). Como consecuencia directa del uso creciente de los carbapenems aparecieron las enzimas productoras de carbapenemasas (EPC). *Chow et al.* describieron a principios de los años noventa los primeros aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas, aislándose en *Enterobacter aerogenes* (6), y a partir de entonces comenzaron a comunicarse nuevos casos esporádicos aunque con una prevalencia muy limitada (7). No sería hasta la mitad de la primera década de 2000, cuando se objetivó un notable aumento, si bien, en menor medida que la difusión de la pandemia de enterobacterias productoras de BLEE que se produjo durante el mismo periodo (especialmente tras la aparición de la enzima CTX-M o cefotaximasas) (7).

Las carbapenemasas son  $\beta$ -lactamasas con capacidad de hidrolización de los carbapenems, además de penicilinas y cefalosporinas. El conjunto de las carbapenemasas es cada vez más complejo incluyendo no solo diferentes tipos de metalobetalactamasas (MBLs) y variantes alélicas de la mismas, sino también diversos tipos  $\beta$ -lactamasas de clase molecular tipo A y tipo D de Ambler (8).

## 1.2. FAMILIA *Enterobacteriaceae*

La familia *Enterobacteriaceae* es uno de los grupos más numerosos y heterogéneos. Se encuentran de forma universal distribuidos desde la vegetación y el agua hasta formar parte de la flora intestinal normal de muchos animales. Son precisamente las enterobacterias las principales responsables de las infecciones producidas en el tracto urinario y digestivo. Algunos de los microorganismos forman parte de la microbiota comensal normal y pueden producir infecciones oportunistas.

Son bacilos gramnegativos no esporulados de tamaño intermedio (0,3 – 3  $\mu\text{m}$ ). No precisan requerimientos nutricionales exigentes: fermentan la glucosa, reducen los nitratos, son catalasa-positivos y citocromo-oxidasa-negativos. Pueden crecer rápidamente tanto en medios aerobios como anaerobios y tanto en medios no selectivos (por ejemplo, agar sangre) como en selectivos (por ejemplo, agar MacConckey) (9).

---

### 1.2.1. PECULIARIDADES DE LAS BACTERIAS GRAMNEGATIVAS

Las bacterias gramnegativas poseen una pared celular más compleja que las grampositivas (Figura 1). Esta característica fundamental, les permite tolerar ambientes con abundantes toxinas externas y presiones osmóticas variables (por

ejemplo, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*). Desde el punto de vista estructural, contienen dos capas rodeando el exterior de la membrana citoplasmática; una primera más interna y delgada, constituida por peptidoglucano y otra más externa, característica de las bacterias gramnegativas. La zona comprendida entre la parte externa de la membrana citoplasmática y la superficie interna de la membrana externa se conoce como espacio periplasmático (9). Es en este espacio donde se encuentran diversas enzimas hidrolíticas encargadas de la degradación y metabolismo. En este mismo espacio se van a encontrar muchos de los factores de virulencia líticos como las  $\beta$ -lactamasas entre otras.

La membrana externa, es diferente desde el punto de vista químico de todas las demás membranas biológicas. Posee una estructura con bicapa cuya capa interna está constituida por fosfolípidos y la externa por lipopolisacáridos (LPS), como veremos más adelante.

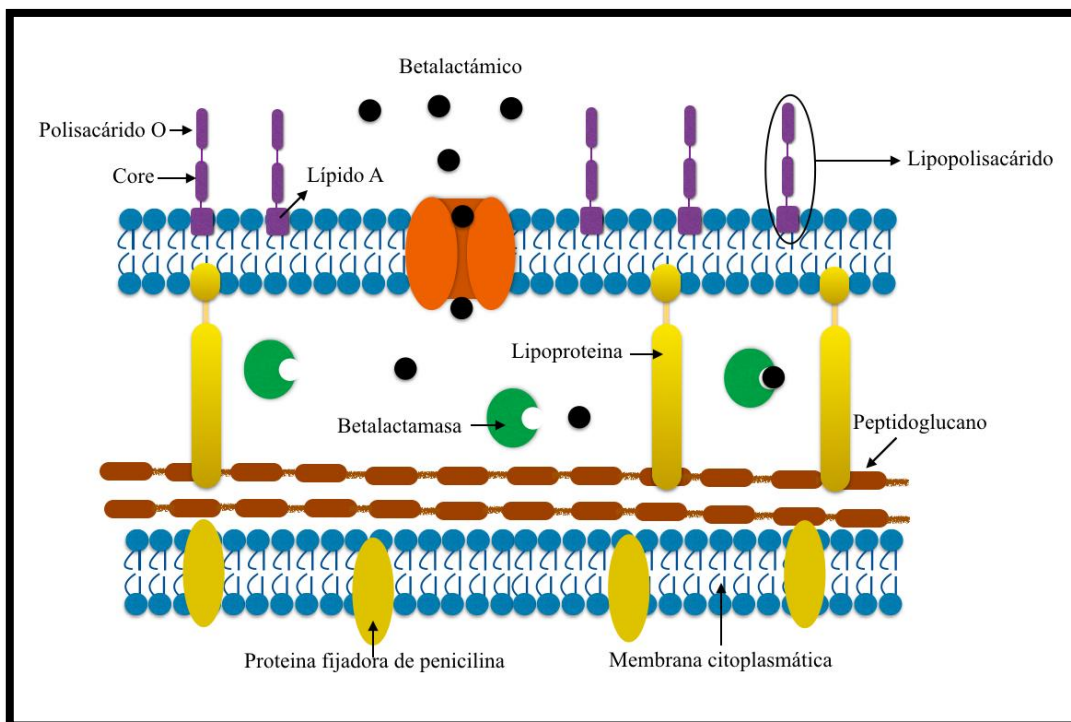


Figura 1. Esquema de la pared celular de una bacteria gramnegativa.

La capacidad de la membrana externa para excluir las moléculas hidrófobas, es una característica poco común y sirve para proteger a la célula de sustancias nocivas. A pesar de tener una naturaleza lipídica, no excluye totalmente el paso de las moléculas hidrofílicas. Esto está motivado por la presencia de proteínas que forman unos conductos especiales, llamados porinas que permiten la difusión a través de la membrana de moléculas hidrofílicas de menos de 700 Da de peso. Constituyen la principal barrera para los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. De hecho, y sirva como ejemplo, la membrana externa de *A. baumannii* es aproximadamente siete veces menos permeable a los carbapenems y las cefalosporinas y hasta 100 veces menos permeable que *E. coli*, debido principalmente a las diferencias en las porinas y en la membrana externa. Estas diferencias tienen un efecto predecible sobre las estrategias de resistencia a los antibióticos. En general las bacterias gramnegativas son los microorganismos mejor adaptados para sobrevivir en los hospitales y en los equipos hospitalarios (*Acinetobacter*, *Pseudomonas* e incluso *Enterobacter* spp). (10)

Por último, la pared celular está atravesada por distintos sistemas de transporte que incluyen los dispositivos de secreción de tipos I, II, III, IV y V. Estos sistemas de transporte aportan mecanismos para la captación y la liberación de distintos metabolitos y otros compuestos. Las bombas transmembrana (o bombas de expulsión activa) tienen un papel fundamental para hacer frente a los antimicrobianos que actúan intracelularmente (como los aminoglucósidos, las quinolonas, las tetraciclina y los macrólidos), pero protegen poco frente fármacos como los antibióticos betalactámicos, que actúan en el espacio periplasmático entre la membrana citoplasmática interna y la membrana hidrofóbica externa (9).

### 1.2.2. CARACTERÍSTICAS DE LA MEMBRANA EXTERNA DE LAS ENTEROBACTERIAS

La pared celular de las enterobacterias está formada por una bicapa lipídica conocida como membrana externa, donde se localiza el lipopolisacárido (LPS). El LPS termoestable es el principal antígeno de la pared celular y está constituido por tres componentes (9):

- El lípido A, la región más interna, que actúa como endotoxina, liberándose durante la lisis celular. Muchas de las manifestaciones sistémicas de las infecciones se inician por la endotoxina que activa el complemento.
- Un polisacárido central compartido por todas las enterobacterias que conforma el núcleo o también llamado “*core*”.
- El polisacárido O somático más externo, anclado al “*core*”. Constituye la parte más externa del lipopolisacárido de la pared celular y se forma por unidades repetidas de polisacáridos. Las enterobacterias se relacionan con grupos O específicos. Determinan la virulencia de las enterobacterias.

Algunas enterobacterias se presentan con cápsulas prominentes. En este grupo encontramos la mayoría de las cepas de *Klebsiella*, siendo menos frecuente en *Enterobacter* e infrecuente en otras especies. Las enterobacterias encapsuladas (antígeno K capsular) se protegen de la fagocitosis gracias a su cualidad hidrofóbica.

Por último, las especies móviles poseen flagelos peritricos de estructura proteíca y de carácter antigénico (antígeno H, flagelar).

La clasificación epidemiológica de las enterobacterias se basa en tres grandes grupos de antígenos: 150 antígenos O somáticos diferentes, más de 100 antígenos K

de la cápsula y más de 50 antígenos H flagelares bacterianos. Los antígenos O específicos de cepa están presentes en cada género y especie, aunque es frecuente la actividad cruzada entre los géneros que estén muy relacionados (9).

### 1.3. CLASIFICACIÓN DE LAS CARBAPENEMASAS.

Las carbapenemasas representan la familia más versátil de las  $\beta$ -lactamasas, con un amplio espectro, único por otras enzimas hidrolizadoras de  $\beta$ -lactamasas. Las carbapenemasas pertenecen a dos grandes familias moleculares que se distinguen por el mecanismo hidrolítico en el sitio de acción. Las primeras carbapenemasas descritas se aislaron en bacilos grampositivos. A diferencia de otras  $\beta$ -lactamasas estas enzimas eran inhibidas por EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), denominándose así metalo-enzimas. Un trabajo posterior ha demostrado que todas las metaloproteinasas carbapenemasas contienen al menos un átomo de zinc en el sitio activo que sirve para facilitar la hidrólisis de un anillo  $\beta$ -lactámico bicíclico. A mediados de la década de 1980 (11), surgió otro grupo de enzimas carbapenemasas aisladas en *Enterobacteriaceae*, en las que EDTA no inhibía su actividad. Estudios posteriores demostraron que estas enzimas utilizaban serinas en su sitio de acción y fueron inactivadas por ácido clavulánico y tazobactam.

Hasta principios de 1990, todas las carbapenemasas fueron descritas como específicas de especie y codificadas cromosómicamente. Sin embargo la identificación de genes *bla* transportados en elementos móviles (por ejemplo, plásmidos y/o integrones), ha cambiado los patrones de diseminación de carbapenemasas, facilitando su transmisión horizontal (12). Lo que antes era

considerado como un problema de propagación clonal se ha convertido en un problema mundial de dispersión entre especies.

Las enterobacterias resistentes a los carbapenems se han extendido por todo el mundo como consecuencia principalmente, de la adquisición de genes productores de carbapenemasas. Se han identificado  $\beta$ -lactamasas con actividad frente a carbapenems en todas las clases moleculares de Ambler (Figura 2), pero las clases A,B, y D tienen el mayor impacto epidemiológico.

Por otro lado, también se han identificado cefalosporinasas producidas por enterobacterias pertenecientes a la clase C de Ambler que poseen una ligera actividad extendida hacia carbapenems, pero su papel clínico por el momento sigue siendo desconocido (13).

Las clases moleculares A, C y D incluyen las  $\beta$ -lactamasas con serina en su lugar activo, mientras que la clase molecular B son enzimas con zinc en su lugar de acción.



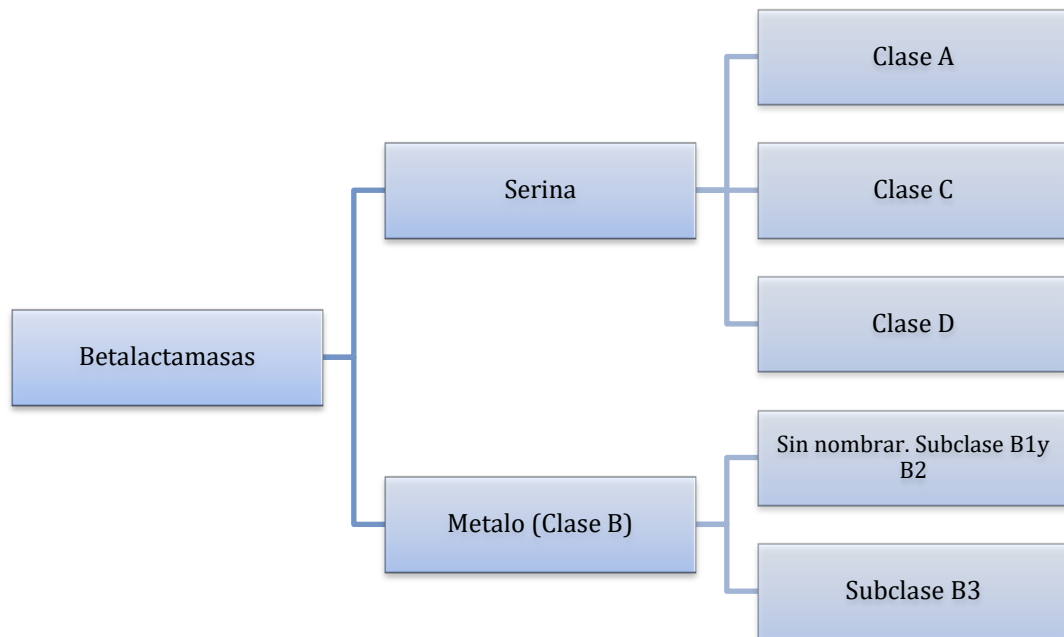


Figura 2. Clasificación de Ambler.

### 1.3.1. CARBAPENEMASAS CLASE A.

Se han descrito una gran variedad de carbapenemasas de clase A. Las bacterias que expresan estas enzimas se caracterizan por su susceptibilidad reducida a imipenem, pero la concentración mínima inhibitoria (CMI) puede variar desde ligeramente aumentada hasta totalmente resistente. Existen tres grandes familias dentro de las carbapenemasas clase A que incluye las enzimas *Not Metalloenzyme Carbapenease/ Active On Imipenem (Nmc/IMI)*, *Serratia Marcescens Enzyme (SME)* y *Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase (KPC)*. Su mecanismo hidrolítico requiere una serina en el lugar de acción. Todos ellos tienen la capacidad de hidrolizar una amplia variedad de  $\beta$ -lactámicos, incluidos los carbapenémicos, las cefalosporinas, las penicilinas y el aztreonam y todos son inhibidos por ácido clavulánico y tazobactam. Un cuarto miembro de esta clase, la enzima  $\beta$ -lactamasa

*Guiana extended spectrum (GES)* se identificó originalmente como una familia tipo BLEE, porque no posee actividad carbapenemasa, pero con el tiempo se describió una cierta hidrólisis del imipenem (Tabla 1).

Algunas de estas enzimas están codificadas por cromosomas (p. ej, NmcA, SME, IMI-1) y otras por plásmidos (p. ej, KPC, IMI-2, GES). Las enzimas NmcA fueron las primeras carbapenemasas de la clase A que fueron identificadas en 1990, a partir de un aislamiento en *Enterobacter Cloacae* (14). No obstante, las enzimas tipo KPC son las más frecuentes de grupo.

Las enzimas SME solo se han identificado en *Serratia marcescens*. En esta familia se incluyen tres variantes: SME1, -2, -3. Las carbapenemasas tipo IMI y NmcA se han detectado en aislamientos de *Enterobacterias* spp poco frecuentes en Reino Unido, Francia y Argentina (12). El gen que codifica la variante IMI-2 ha sido identificado como un plásmido situado en cepas de *Enterobacteriaceae* aislado en ríos de Estados Unidos, así como una única cepa aislada en China(15).

El primer representante de las enzimas tipo **GES** fue descrito en el año 2000. En la actualidad, esta familia incluye 20 variantes. Todas las variantes GES poseen la capacidad para hidrolizar cefalosporinas de amplio espectro, pero algunas variantes poseen sustituciones de aminoácidos dentro de su sitios de acción (posición 104 y 170 según la clasificación de Ambler) que amplían el espectro de actividad frente a los carbapenems ( GES-2, -4, -5, -6, -11, -14) (16).

Se han identificado tres variantes **KPC** (KPC-1, KPC-2 y KPC 3). Hay dos características que separan las KPC del resto de las enzimas carbapenemasas. En primer lugar, las enzimas KPC se encuentran en **plásmido transferibles**; en segundo lugar, su espectro de hidrólisis incluye el anillo aminotiazol de las

cefalosporinas (17), tales como cefotaxima, aunque los valores de CMI que se obtienen suelen estar por encima del punto de corte de sensibilidad. No se inhiben por el ácido clavulánico pero si por el ácido borónico, inhibidor que se utiliza para el reconocimiento fenotípico.

Aunque, las enzimas KPC son habitualmente aisladas en *K. pneumoniae*, no están estrictamente confinadas a este microorganismo. De hecho, han sido halladas en *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella enterica*, *Citrobacter freundii*, *enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, así como en gramnegativos no fermentadores, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* y *Acinetobacter spp*. El primer microorganismo productor de KPC aislado (KPC-2 en *K-pneumoniae*) fue identificado en 1996 en los Estados Unidos. En pocos años se extendieron a los estados contiguos de los Estados Unidos, en particular, a Puerto Rico y Colombia.(13).

El descubrimiento de las enzimas tipo KPC representa una amenaza adicional en el cambiante mundo de las  $\beta$ -lactamasas, ya que, como he mencionado, los genes correspondientes a menudo se encuentran en plásmidos transferibles, a diferencia de las  $\beta$ -lactamasas, *K. pneumoniae* productoras de KPC se propagan fácilmente en los centros sanitarios, siendo responsables de una mortalidad superior al 50% en aquellos pacientes en los que se produce bacteriemia (18). Debido a sus altas tasas de hidrólisis de imipenem, le confieren resistencia de alto nivel frente a este antimicrobiano.

### 1.3.2. CARBAPENEMASAS CLASE B.

Las carbapenemasas de clase B es quizás el grupo más relevante de carbapenemasas debido tanto a su diversificación estructural como a su diseminación prácticamente mundial. Poseen un amplio perfil hidrolítico que incluye las penicilinas, cefalosporinas y los carbapenems, con excepción del aztreonam. No se inhibe por el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam. A diferencia del resto de  $\beta$ -lactamasas, su hidrólisis depende de la interacción del  $\beta$ -lactámico con un ion de zinc en el sitio de acción (necesario para la hidrólisis del anillo betalactámico). Esto explicaría su inhibición por quelantes divalentes como el EDTA, compuestos tiólicos como el ácido 2-mercaptopropiónico o el ácido dipicolínico. Los genes MBLs pueden ser transportados en *cassettes* dentro de integrones, transposones o plásmidos, elementos denominados regiones comunes (CRs) que pueden o no, ser transferibles, o estar insertos en el cromosoma, lo que les confiere a especies como *Stenotrophomonas maltophilia* resistencia intrínseca a los carbapenémicos. La adquisición de estos genes puede conferir resistencia a un amplio espectro de antibióticos betalactámicos y en algunas ocasiones pueden estar asociados con genes que confieren resistencia a aminoglucósidos, por lo que se pueden identificar bacterias con un fenotipo de resistencia a betalactámicos y aminoglucósidos. Dentro de las MBLs se distinguen ocho grupos: IMP (*active on imipenem*), VIM (*Verona integron encode metallo- $\beta$ -lactamase*), SPM (*Sau Paulo metallo-beta-lactamasa*), SIM (*Seoul imipenemase*), GIM (*German imipenemase*), AIM (*Adelaide IMipenmase*), DIM, y KHM (*Kyorin Healt Science Metallo- $\beta$ -lactamase*). Los tipos más frecuentes incluyen los grupos IMP y VIM, junto con el creciente grupo NDM, mientras KHM-1 es poco habitual (Tabla 1). La mayoría de los

microorganismos productores de MBL son *K. pneumoniae* multirresistentes adquiridas en el hospital, pero también incluyen *Pseudomonas spp.* y *Acinetobacter spp.* En general, el nivel de resistencia observado para MBL es variable, y la mortalidad atribuida oscila entre el 18 y el 67% (12).

La primera carbapenemasa de origen plasmídico identificada fue IMP-1. Descrita en Japón en 1991 en *P. aeruginosa* y con posterioridad en diversas especies de enterobacterias, entre ellas *Serratia marcescens* y también en *Pseudomonas putida* y *Achromobacter xylooxidans*. Los genes  $bla_{IMP}$  a menudo se encuentran localizados en integrones en plásmidos transferibles. Los integrones son estructuras genéticas capaces de integrar *cassettes* de genes individuales que codifican los genes de resistencia a antibióticos. Los integrones están constituidos por dos regiones de DNA muy conservadas, situadas en sus extremos, que se denominan 5'CS y 3'CS (5' y 3' *conserved segments*). Los *cassettes* de genes se definen por un gen de resistencia precedido por un sitio de unión ribosomal y un sitio de recombinación, conocido como el elemento de 59 bases (59-BE). En consecuencia, la adquisición de un gen IMP a menudo se asocia con la adquisición de otros marcadores de resistencia antibiótica. Entre estas dos zonas se pueden insertar uno o más genes de resistencia a antibióticos. En la actualidad se conocen hasta 29 variantes en el grupo de las enzimas IMP y se han descrito con más frecuencia en *P. aeruginosa* que en las enterobacterias.

En 1997 se aislaron en Verona, Italia, *P. aeruginosa* productoras de VIM-1, una enzima igualmente de clase B y de carácter transferible (19). Al igual que los genes  $bla_{IMP}$ ,  $bla_{VIM-1}$  forma parte de un *cassette* insertado en un integrón de clase 1. Se han descrito en otras especies tales como *S. marcescens* en Corea, *E. coli* y *K.*

*pneumoniae* en Grecia, *A. xylosoxidans* y *Pseudomonas putida* (8). Se han aislado hasta el momento al menos 33 variantes, siendo VIM-2 la  $\beta$ -lactamasa más difundida a nivel mundial. La carbapenemasa tipo VIM-1 y tipo VIM-2 comparten el 90% de los aminoácidos. El gen  $bla_{VIM-2}$  fue identificado por primera vez en una cepa de *P. auruginosa* en un paciente ingresado por pancitopenia en una unidad de hematología en 1996 (19). Se demostró resistente a la mayoría de los  $\beta$ -lactámicos, incluyendo ceftazidima, cefepime e imipenem, manteniéndose susceptible a aztreonam. EL gen  $bla_{VIM-2}$  se encuentra en un plásmido transferible por *Pseudomonas spp.* Aunque los patrones de hidrólisis entre VIM-1 y VIM-2 fueron similares para la mayoría de los  $\beta$ -lactámicos, VIM-1 parece hidrolizar mejor a prácticamente todos los  $\beta$ -lactámicos (sobre todo, a ciertas cefalosporinas) que VIM-2, lo cual parece explicarse por cambios de aminoácidos cercanos o en el propio centro activo de la enzima (20). A diferencia de VIM-1, VIM-2 no ha sido identificado en *E. coli* ni en *Klebsiella pneumoniae*.

Aunque, como se ha mencionado, tradicionalmente las enzimas más frecuentes dentro de la Clase B son los tipos VIM y IMP, parece que la emergente aparición de NMD-1 desde 2010 se está convirtiendo en un problema cada vez más frecuente. Se han aislado casos en todos los continentes excepto en Sudamérica, aunque la mayoría de los casos han sido registrados en Reino Unido, India y Pakistán(12). Algunos estudios sugieren que los Balcanes y el Medio Oriente podrían actuar como reservorios secundarios de EPC tipo NDM-1(21). La mayoría de las cepas han sido aisladas en enterobacterias, habitualmente en *K. pneumoniae*, patógeno frecuentemente nosocomial y en *E. coli* habitual en la comunidad. Ha sido identificado en *E. coli* tipo ST (*Sequence type*) 13; este tipo corresponde al clon de *E. coli* productor de CTX-M-15 difundido en todo el mundo (22). Las EPC tipo NDM-1

han sido aisladas en el agua corriente y en el medio ambiente de Nueva Delhi (23).

El gen  $bla_{NMD-1}$  no se asocia a un único clon, a una especie o a un plásmido específico. Los plásmidos que transportan el gen  $bla_{Ndm-1}$  son diversos y pueden contener un alto número de genes de resistencia asociados con otros genes de carbapenemasas (ej, tipo VIM o tipo OXA-48), genes de cefalosporinas mediados por plásmidos (ej., tipos CMY), BLEE (ej., tipos CTX-M), genes de resistencia a aminoglucósidos (16S RNA metilasa), genes de resistencia a macrólidos (esterasa), rifampicina (enzimas modificadoras de rifampizina) y genes de resistencia sulfametoxazol (13). Algunas de las cepas solo van a ser sensibles a la tigeciclina, colistina y en menor medida a la fosfomicina. Por lo tanto, el principal problema de NDM-1 en comparación con otras especies, es su capacidad de transmisión del gen  $bla_{NDM-1}$  no en una sola especie, sino en muchas no relacionadas y su propagación por el medio ambiente. Aunque la mayoría de las enzimas NDM están descritas en enterobacterias, se han aislado NDM-2 en *Acinetobacter baumannii* (24).

---

### 1.3.3. CARBAPENEMASA CLASE D.

Las enzimas Clase D están principalmente representadas por oxacilinasas, también conocidas como OXA (Tabla 1). En este grupo se incluyen más de 400 enzimas con actividad betalactamasa y en realidad, solo algunas variantes poseen actividad carbapenemasa. El grupo de carbapenemasas de clase D fueron reclasificadas en 12 subgrupos: OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-51, OXA-58, OXA-134, OXA-143, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229 y OXA-235(25). El primer

aislamiento fue comunicado en Turquía en 2003 (26). Desde entonces, se han registrado brotes nosocomiales en países europeos, principalmente en el sur de Europa, zona este del Mediterraneo y África(13). Son raras en Estados Unidos y Canadá. En los últimos años hemos presenciado una tendencia a una mayor identificación de EPC tipo OXA-48 en España, así como en Alemania, Países Bajos y Reino Unido. Se asocia frecuentemente con la producción de BLEE (en particular con la enzima CTX-M-15) aumentando su resistencia a los carbapenems. Su rápida diseminación se asocia a la difusión de plásmidos. Las tasas de mortalidad asociadas a las bacterias productoras de OXA son desconocidas (27).

La peculiaridad de esta clase de enzima radica en su capacidad de hidrolizar débilmente a los carbapenems y no hidrolizar cefalosporinas de amplio espectro ni aztreonam (a excepción de OXA 27). Su actividad es poco inhibida por EDTA o ácido clavulánico (menos OXA 23 que es resistente), por lo tanto, su reconocimiento y detección representan un desafío. Se han identificado en varias especies de enterobacterias, pero se aíslan con más frecuencia en *K. pneumoniae*, *E. coli* y *A. baumannii*. Su nivel de resistencia a los carbapenems aumenta cuando se asocian a alteraciones en la permeabilidad de la membrana y la producción de  $\beta$ -lactamasas.



Tabla 1. Clasificación de carbapenemasas

Ambler	Enzimas	Inhibido			Espectro de hidrolisis					Microorganismo localizado	Transmisión
		CLA	EDTA	PNC	C1	C2	C3	CBP	ATM		
A	SME, IMI, NmcA, SFC	±	-	++	++	-	+	++	+	<i>Serratia marcescens</i> y <i>Enterobacter Cloacae</i>	Cr
	KPC	±	-	++	++	-	++	++	+	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. Aeruginosa</i> , <i>A. Baumannii</i>	Pl
	GES	+	-	++	++	+	+	+	-	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. Aeruginosa</i> , <i>A. Baumannii</i>	Pl
B	NMD, IMP, VIM, GIM, SPM, AIM, DIM, KPH	-	+	++	++	++	++	++	-	<i>A. Baumannii</i> , <i>P. Aeruginosa</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	Pl/Cr*
D	OXA	±	-*	++	++	±	±	+	-	<i>A. Baumannii</i> , <i>P. Aeruginosa</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	Pl/Cr

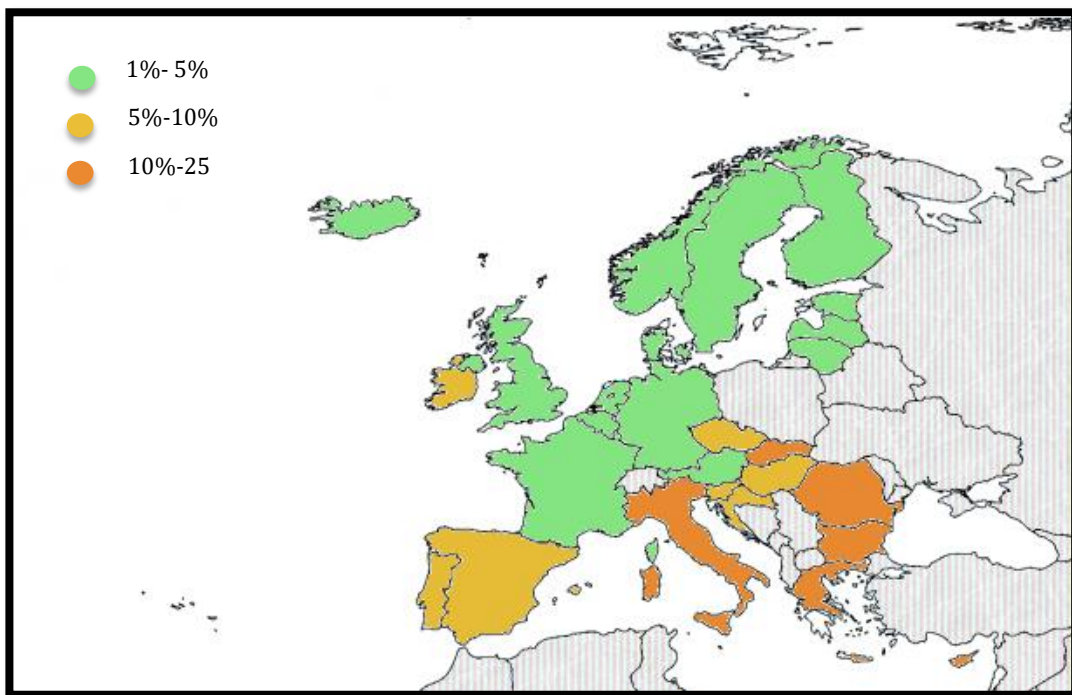
ATM: aztreonam; CBP: carbapenem; CLA: clavulánico; Cr: cromosoma; C1: cefalosporinas de 1º generación; C2: Cefalosporinas de 2ª generación; C3: Cefalosporinas de tercera generación; Pl: plásmido; PNC: penicilina; R: resistente; S susceptible

\*Ocasionalmente codificadas por cromosomas\*\* Algunas enzimas OXA son inhibidas por EDTA.

#### 1.4. SITUACIÓN ACTUAL

Nos encontramos, por lo tanto, ante un reconocido problema de salud pública. Cada año en Estados Unidos, al menos 2 millones de personas adquieren infecciones graves por bacterias resistentes. Como consecuencia directa, se registran anualmente 23.000 muertes (28). Este dato es algo mayor cuando nos referimos a Europa, en el que se estiman que mueren cada año 25.000 personas

(29). Por esta razón, tanto *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) como *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), publican regularmente informes centrados en la resistencia a los antimicrobianos, su impacto en la salud y la economía (28) (29).



**Figura 3. Escherichia coli. Porcentaje de aislamientos con resistencia combinada a cefalosporinas de tercera generación, fluorquinolonas y aminoglucósidos (30).**

El aumento en la frecuencia de aislamientos de organismos gramnegativos productores de BLEE o carbapenemasas es un hecho particularmente alarmante. Esta situación, en cambio es más estable en el caso de los microorganismos grampositivos (29). Si nos centramos en los informes europeos de vigilancia antibiótica (figura 3), se encontró que las tasas de resistencia a cefalosporinas de tercera generación para *Escherichia coli* variaban notablemente entre países. Así,

encontraron diferencias hasta de 20 veces en el porcentaje de resistencia entre Islandia (1.4%) y Chipre (13.1%)(30).

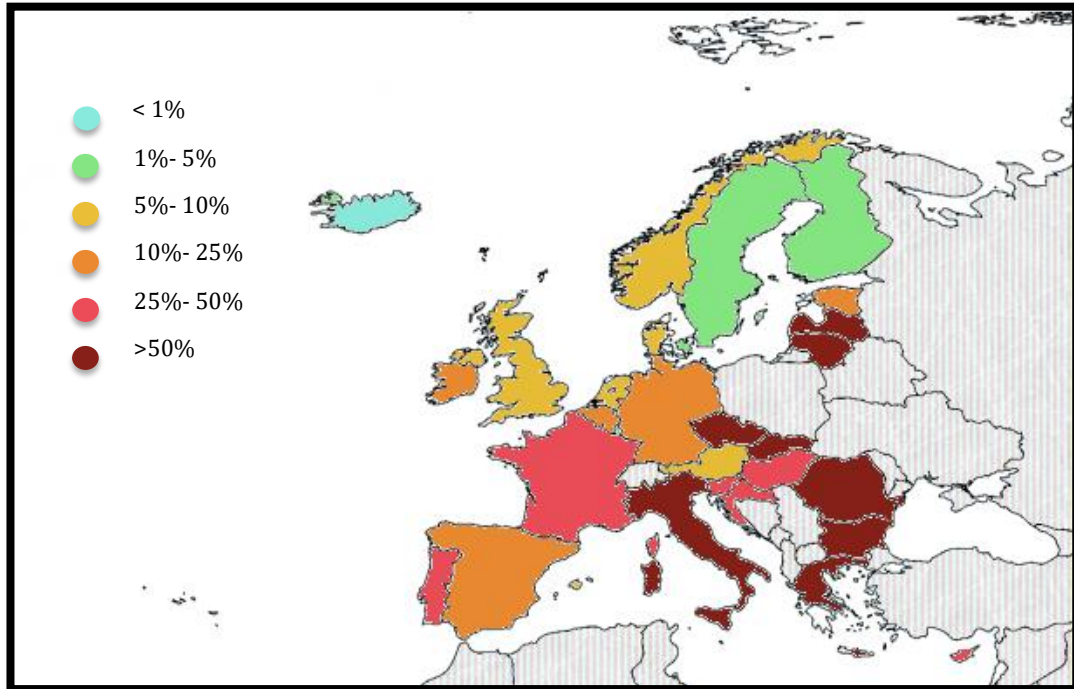


Figura 4. *Klebsiella pneumoniae*. Porcentaje (%) de aislamiento con resistencia a cefalosporinas de tercera generación(30).

Las diferencias son aún más notables cuando nos referimos a *Klebsiella pneumoniae* (figura 4) que van desde un 1,4 % en Finlandia a un 63,3% en Eslovaquia (30) (29). No obstante, la resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Klebsiella spp* es mayor en Asia ( $\geq 60\%$ ), comparada con el 10-30% en el sur de Europa, y el 10,5% en el norte de Europa, Australia y América del Norte (31). El último informe de 2016 (figura 5) muestra que la resistencia a los carbapenems por *K. Pneumoniae* ha mostrado una tendencia creciente en Europa, pasando de un 6% en 2011 a un 7.3% en 2014. Los países que principalmente han sufrido este incremento son: Bulgaria, Francia, Alemania, Italia, Portugal y España (32).

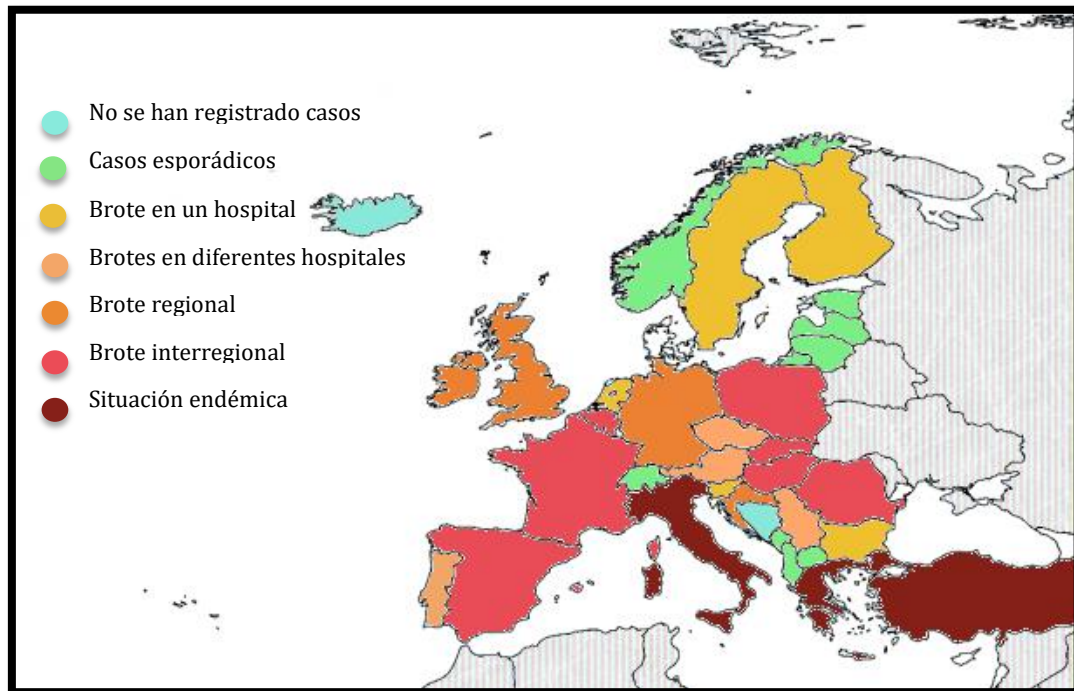


Figura 5. Aislamientos de EPC (*K. pneumoniae* y *E. Coli*) (32).

Desafortunadamente la resistencia microbiana no es solo un problema extrahospitalario. Más del 21% de las infecciones nosocomiales son causadas por patógenos resistentes (33). En una encuesta facilitada por el ECDC donde se valoraban las infecciones nosocomiales desde el 2011-2012, 18 de los 28 países que participaron informaron de aislamientos de enterobacterias no susceptibles a los carbapenems. Grecia fue el país que notificó un mayor número de aislamientos (39.9%) (32). La rápida diseminación en muchas ocasiones a través del personal sanitario, predispone a la aparición de brotes epidémicos, aumento de la estancia hospitalaria (de 6,4 a 12,7 días), mayor número de complicaciones y disminución de la eficacia de los tratamientos (34) (28). Se estima que las complicaciones asociadas a la resistencia de antibióticos cuestan 9.000 millones de euros al año en Europa

(35). Por su parte, según el último informe del CDC, la resistencia a los antimicrobianos en EEUU tiene una carga económica desde 18.000 a 29.000 \$ en gastos médicos por paciente en tan solo un año fiscal (año 2000) (28).

## JUSTIFICACIÓN

## 2. JUSTIFICACIÓN.

Los pacientes hospitalizados en las unidades de cuidados críticos tienen un riesgo particularmente importante de adquirir infecciones nosocomiales (36). Además, la mayoría de estos pacientes están expuestos a diversos antimicrobianos que pueden favorecer la aparición de resistencias en la flora bacteriana autóctona o a patógenos de transmisión nosocomial. Se ha demostrado que las tasas de resistencia son mayores en los microorganismos aislados en las unidades de cuidados críticos que en otras salas de hospitalización(36).

Por lo tanto, las EPC, junto a las enterobacterias productoras de BLEE, están comenzando a ser uno de los microorganismos más frecuentemente aislados en las unidades de cuidados intensivos (37). En los últimos años, se han dedicado múltiples recursos para el control de su propagación, mejorando la vigilancia, sistemas de alerta y programas de prevención (lavado de manos, precauciones de contacto, tratamiento especial del instrumental, descontaminación selectiva, etc) así como la optimización de la antibioterapia.

No obstante, la amplia difusión de estas enterobacterias junto con su gran resistencia y, por otra parte, nuestro número limitado de antimicrobianos activos frente a ellas, hacen a estas enterobacterias uno de los patógenos más peligrosos, convirtiéndose en una preocupación constante tanto para los pacientes como para los profesionales. Diferentes estudios han estudiado la prevalencia de portadores de *Klebsiella pneumoniae* resistente a las carbapenemasas (KPC y VIM principalmente) (38), pero se sabe muy poco de la prevalencia de otras enterobacterias y cuáles son los factores de riesgo implicados; si bien algunos estudios apuntan como factor de

riesgo principal la presión antibiótica (39). Dilucidar los factores de riesgo en estos pacientes es un paso clave para mitigar los efectos adversos y sus consecuencias para la salud pública y poder establecer unas medidas adecuadas que permitan la optimización de los recursos sanitarios.



## OBJETIVOS

### 3. OBJETIVOS.

Objetivo principal:

1. Analizar cuáles son los factores de riesgo de los portadores rectales de enterobacterias productoras de carbapenemasas en pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos quirúrgicos (UCI-Q) del Hospital Universitario La Paz.

Objetivo secundario:

1. Analizar la incidencia de infección de los pacientes colonizados por enterobacterias productoras de carbapenemasa al ingreso en la UCI-Q del Hospital Universitario La Paz.
2. Analizar si existe relación, en los pacientes colonizados por enterobacterias productoras de carbapenemasa, entre la producción de carbapenemasa y otros mecanismos de resistencia como la producción de BLEE.

## MÉTODOS

## 4. MÉTODOS

### 4.1. ÉTICA

Previo al inicio de la recogida de datos, el protocolo del estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética de nuestro centro (código HULP: P1-1748, anexo I). El acceso y manejo de los datos personales se realizó manteniendo la más estricta confidencialidad, en cumplimiento de la ley vigente (Ley Orgánica 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de los derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica). Debido al carácter y diseño de nuestro estudio y de acuerdo con el Comité de Ética de nuestro centro, la obtención del consentimiento informado no fue necesaria.

### 4.2. DISEÑO DEL ESTUDIO

Es un estudio, observacional, casos y controles, retrospectivo sobre una población de 254 pacientes ingresados en la UCI-Q del Hospital Universitario La Paz desde enero de 2012 hasta diciembre de 2013.

El Hospital Universitario la Paz (HULP) es un centro hospitalario público de tercer nivel, dependiente de la Comunidad de Madrid, situado en la zona norte de Madrid. Compuesto por un entramado de 20 edificios que forman los cuatro hospitales principales: Hospital General, Hospital Maternal, Hospital Infantil, Hospital de Traumatología y Rehabilitación. Durante 2012 se atendió un total de

47.368 pacientes en régimen de hospitalización y se realizaron 40.678 intervenciones quirúrgicas. Cuenta con un total de 1.308 camas de hospitalización.

El estudio se llevó a cabo en la UCI-Q del HULP, con 11 camas de cuidados críticos postquirúrgicos y una tasa de ocupación media del 80-90%. Los principales ingresos procedían de los servicios de Cirugía General y Digestivo, Neurocirugía, Cirugía Vasculuar, Cirugía Maxilofacial, Otorrinolaringología y Urología.

### 4.3. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Definimos paciente caso como aquél mayor de 14 años que ingresa en la UCI-Q y que en las muestras rectales de vigilancia epidemiológicas realizadas en las primeras 12-24 horas del ingreso, muestran resultados positivos para EPC. Definimos paciente control como aquél mayor de 14 años que ingresó en la UCI-Q y tras la extracción de muestras de vigilancia epidemiológicas realizadas en las primeras 12-24 horas fueron negativas para EPC. La inclusión de los pacientes se realizó de manera secuencial.

Los criterios de selección fueron los siguientes:

**Criterios de inclusión:**

- Pacientes mayores de 14 años que ingresaron en la UCI-Q, a cargo del Servicio de Anestesia y Reanimación del Hospital Universitario La Paz, y que se les realizó muestras rectales para vigilancia epidemiológica, en las primeras 12-24 horas.
- Ingreso mayor de 24 horas de duración.

**Criterios de exclusión:**

- Pacientes menores de 14 años.
- Ingreso menor de 24 horas de duración.

#### 4.4. VARIABLES A ESTUDIAR

Con el fin de poder responder a las cuestiones planteadas en los objetivos se han recogido una serie de variables agrupadas en 2 áreas:

- Estado basal del paciente antes de su ingreso en la UCI-Q<sup>[1]</sup><sub>SEP</sub>
- Estado del paciente durante su ingreso en la UCI-Q<sup>[1]</sup><sub>SEP</sub>

La variable DEPENDIENTE en nuestro estudio es: estar colonizado en recto por EPC

Las variables INDEPENDIENTES del estudio se detallan a continuación:

##### **1. VARIABLES REFERIDAS A LA SITUACIÓN BASAL DEL PACIENTE:**

**1.1. Datos demográficos del paciente:** sexo, edad, lugar de residencia (domicilio, residencia geriátrica u otro lugar).

**1.2. Enfermedades asociadas y situación basal:** diabetes mellitus (DM), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), cirrosis, neoplasia sólida o hematológica, insuficiencia cardiaca congestiva (ICC), insuficiencia renal crónica (IRC) en diálisis, tratamiento actual con corticoides, procedimiento endoscópico biliar o digestivo en el último año.

**1.3. Ingresos previos en el último año:**

- En la UCI-Q
- En la UCI médica
- En planta de hospitalización médica o quirúrgica.
- Número de días de hospitalización en cada situación.

**1.4. Variables relacionadas con cirugías previas:** cirugía abdominal y/o urgente realizada en el último mes.

**1.5. Variables relacionadas con cultivos microbiológicos:** colonización rectal por EPC.

**1.6. Variables relacionadas con antibioterapia (seis meses previos):**

- Número de antibióticos administrados durante los últimos seis meses.
- Número de antibióticos administrados por día.
- Familia a la que pertenece el antibiótico administrado.

**2. VARIABLES REFERIDAS AL PERÍODO DE INGRESO EN LA UCI-Q:**

**2.1. Criterios de gravedad:** presencia de insuficiencia respiratoria, puntuaciones en las escalas **SAPS II** (*Simplified Acuted Physiology Score*), **APACHE II** (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*) y **SOFA** (*Sequential Organ Failure Assessment*).

**2.2. Variables relacionadas con cultivos microbiológicos:**

- Fecha del primer cultivo rectal de vigilancia.

- Fecha del primer cultivo rectal de vigilancia positivo para EPC.
- Microorganismos aislados en el cultivo de vigilancia rectal.
- Muestra en el que se aíslan EPC (rectal, hemocultivo, urocultivo u otros).
- Días de ingreso en la UCI-Q hasta el primer cultivo de vigilancia rectal positivo.

### **2.3. Variables relacionadas con antibioterapia:**

- Número de antibióticos administrados durante más de tres días.
- Número de antibióticos administrados por día.
- Familia a la que pertenece el antibiótico administrado.

## **4.5. MATERIAL UTILIZADO**

Para la recopilación de variables de cada paciente se elaboró una hoja de recogida de datos diseñada específicamente para el estudio (Figura 6). Los datos epidemiológicos referentes a las características demográficas, enfermedades crónicas concomitantes, hospitalizaciones previas y la duración de su estancia, el uso de antibióticos y cultivos microbiológicos previos, se obtuvieron mediante la historia clínica informatizada (HP-Doctor®), Estación Clínica (LabTrack®) y la historia clínica no digital del HULP así como de la UCI-Q. Fue necesaria la ayuda del servicio de farmacia para obtener el tratamiento administrado durante los últimos seis meses de ingreso.



### Hoja de Recogida de Datos

#### Portadores rectales de Enterobacterias Productoras de carbapenemasas

Klebsiella spp oxa-48  E. coli oxa 48   
 Klebsiella spp VIM-1  E. coli VIM-1   
 Hemocultivo + mismo microorganismo   
 Cultivo de orina + mismo organismo   
 Fecha de ingreso en rea: \_\_\_\_\_  
 Fecha de 1º cultivo de vigilancia: \_\_\_\_\_  
 Fecha de cultivo + de vigilancia: \_\_\_\_\_  
 Datos Demográficos:  
 - Edad: \_\_\_\_\_  
 - Sexo: Varón  Mujer

Enfermedades asociadas:

- DM
- EPOC
- Cirrosis
- Neoplasia sólida o hematológica
- ICC crónica
- IRC en diálisis
- Coroides
- Procedimiento endoscópico biliar o digestivo en el último año

Gravedad:

- Insuficiencia Respiratoria en ingreso en Rea
- SAPS II al ingreso en Rea: \_\_\_\_\_
- APACHE II al ingreso en Rea: \_\_\_\_\_
- SOFA al ingreso en Rea: \_\_\_\_\_

ANTIBIÓTICOS previos > 3 días en los últimos 6 meses previos

- carbapenems
- quinolonas
- cefalosporinas 3 y 4
- β-lactámicos- inhibidores β -lactamasa
- colistina
- aminoglicósidos
- glucopéptidos
- metronidazol
- tigeciclina
- linezolid
- daptomicina
- nº de ATBs administrados: \_\_\_\_\_
- nº máximo de ATBs por día: \_\_\_\_\_

ANTIBIÓTICOS > 3 días durante el ingreso en REA

- carbapenems
- quinolonas
- cefalosporinas 3 y 4
- β-lactámicos- inhibidores β -lactamasa
- colistina
- aminoglicósidos
- glucopéptidos
- metronidazol
- tigeciclina
- linezolid
- daptomicina
- nº de ATBs administrados: \_\_\_\_\_
- nº máximo de ATBs por día: \_\_\_\_\_

Hospitalización previa dentro del último año

- duración de hospitalización previa ingreso Rea (días): \_\_\_\_\_
- duración de estancia en UC/REA previa ingreso REA (días): \_\_\_\_\_
- en sala de medicina
- en sala de cirugía

Cirugía urgente dentro del último mes previo

Cirugía abdominal dentro del último mes previo

Lugar de residencia habitual

- domicilio
- residencia
- otros

Cultivo de vigilancia enterobacteria BLEE + previo

Duración de estancia en Rea previo a cultivo de vigilancia + (días): \_\_\_\_\_

APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation ;DM: Diabetes Mellitus; EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica; ICC; Insuficiencia Cardíaca Congestiva; IRC: Insuficiencia Renal Crónica; N.º: número; SAPS: Simplified Acuted Physiology Score; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment

Figura 6. Hoja de recogida de datos

---

#### 4.5.1 CRITERIO DE GRAVEDAD.

Para la valoración de los criterios de gravedad se usaron las escalas SAPS II , SOFA y APACHE II, en las primeras 24 horas. A continuación, se detalla su forma de uso y cálculo.

---

##### A. APACHE II.

El sistema APACHE fue el primer modelo de gravedad utilizado y sigue siendo ampliamente usado en las unidades de cuidados críticos. Es sencillo de calcular a partir de datos disponibles en la clínica y proporciona una evaluación de la gravedad de la enfermedad en el momento en que se atiende al paciente por primera vez. Está compuesta de dos partes:

- a) Una puntuación fisiológica que representa el grado de la enfermedad aguda, utilizando 12 variables fisiológicas (A)(tabla 2). Todas las medidas se valoran por una escala de 1-4, tomando el peor valor obtenido en las primeras 24 horas de admisión en la unidad de cuidados críticos (UCI).
- b) Una puntuación de la edad del paciente (B) y del estado de salud (tabla 3) previo del paciente (C), es decir, presencia de enfermedad crónica definida de los sistemas cardiovascular, respiratorio, hepático, renal e inmunológico.

La suma de ambas escalas constituye la puntuación APACHE II. La puntuación máxima posible es 71. La puntuación media obtenida por los supervivientes se encuentra habitualmente en el rango 9-15, mientras que aquellos que finalmente mueren tienen puntuaciones medias más elevadas, de 19-25. La puntuación de gravedad resultante se introduce en una ecuación de regresión logística, junto a si

ha recibido o no cirugía urgente y el coeficiente de ponderación asignado a la categoría diagnóstica del paciente. De esta manera permite establecer la predicción individual de la mortalidad hospitalaria (40). El valor de mortalidad hospitalaria, *Pr*, vendría dada por la fórmula siguiente:

$$Pr = e^{\text{logit}} / (1 + e^{\text{logit}})$$

EL valor de *logit* se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Logit} = -3,517$$

$$+ \text{puntuación APACHE II} \times 0,146$$

$$+ 0,603 \text{ (solo si cirugía de urgencia)}$$

$$+ \text{coeficiente categoría diagnóstica}$$

Tiene una excelente discriminación, pero su precisión es muy variable y esto depende de la evolución de los tratamientos y otros factores que pueden influir en los cambios de la mortalidad. En los pacientes quirúrgicos sépticos de origen intraabdominal, cuya mortalidad es especialmente alta, se ha encontrado una buena correlación entre la puntuación APACHE II y la mortalidad(41).

Tabla 2. Escala de gravedad APACHE II (40). Puntuación fisiológica (A) y puntuación de la edad del paciente (B).

A. PUNTUACIÓN FISIOLÓGICA (suma de las doce variables individuales)									
VARIABLES	RANGO ELEVADO				NORMAL	RANGO BAJO			
	+4	+3	+2	+1		+1	+2	+3	+4
Temperatura rectal (°C)	≥41	39-40,9		38,5-38,9	36-39,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	≤29,9
Presión arterial media (mm Hg)	≥160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤49
Frecuencia cardiaca (lpm)	≥180	140-179	110-139		70-109		50-69	40-54	≤39
Frecuencia respiratoria (rpm)	≥50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤5
Oxigenación (valorar si A o B)									
A. Si $FiO_2 \geq 0.5$ $D_{A-a}O_2$	≥500	350-499	200-349		<200				
B. Si $FiO_2 < 0.5$ , $paO_2$ (mmHg)					>70	61-70		55-60	<55
pH arterial	≥7,70	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7.25-7.32	7.15-7.24	<7.15
Natremia (mEq/l)	≥180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤110
Potasemia (mEq/l)	≥7	6-6.9		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9		<2.5
Creatinina (mg/dl) (doble si FRA)	≥3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		
Hematocrito (%)	≥60		50-59.0	46-49.9	30-45.9		20-29.9		<20
Leucocitos ( $mm^3 \times 1000$ )	≥40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		<1
GCS (15-puntuación del paciente)									
Si no GSA: $HCO_3$	≥52	41-41.9		32-40.9	22-31.9		18-21.9	15-17.9	<15
B. EDAD									
Edad	Puntos								
< 44	0								
45-54	2								
55-64	3								
65-74	5								
>75	6								

$D_{A-a}O_2$ : diferencia alveolo-arterial de oxígeno; GCS: *Glasgow Coma Scale* (Escala de coma de Glasgow); GSA: Gasometría arterial;  $paO_2$ : presión parcial arterial de oxígeno; FRA: fracaso renal agudo;

Tabla 3. Escala de gravedad APACHE II (40). Puntuación del estado de salud previo (C)

<b>C. ENFERMEDAD CRÓNICA</b>	
<b>C.1. Antecedentes de insuficiencia orgánica grave</b>	
<b>Pacientes no quirúrgicos</b>	5
<b>Pacientes postoperatorios de urgencias</b>	5
<b>Cirugía electiva</b>	2
<b>C.2. Insuficiencia orgánica o estados de inmunodepresión (debe existir antes del ingreso actual)</b>	
<b>Inmunocomprometidos</b>	Que hayan recibido terapia que suprima la resistencia a la infección (inmunosupresión, quimioterapia, radiación, esteroides crónicos o altas dosis recientes) o que padezca enfermedad suficientemente avanzada para inmunodeprimidos (Leucemia, linfoma, SIDA...).
<b>Insuficiencia hepática</b>	Cirrosis demostrada por biopsia, hipertensión portal comprobada, antecedentes de hemorragia digestiva alta por hipertensión portal o episodios previos de fallo hepático, coma o encefalopatía.
<b>Cardiovascular</b>	Clase IV de la <i>New York Heart Association</i> (NYHA).
<b>Respiratorio</b>	Restrictivo, obstructivo o vascular, obliga a restringir ejercicio (incapacidad para subir escaleras o hacer tareas domésticas) o hipoxia crónica probada, hipercapnia, policitemia secundaria, hipertensión pulmonar grave o dependencia a ventilación mecánica.
<b>Renal</b>	Dependencia de diálisis crónica.

## B. SAPS II.

Esta escala, en su versión inicial fue propuesta con el objetivo de simplificar la escala APACHE I. Su segunda versión fue diseñada en 1993 y validada en 12.997 pacientes de 137 UCIs de Norteamérica y Europa (42). Consta de doce variables fisiológicas, tres variables de estado de salud previo, la edad y una variable indicando el tipo de admisión en la unidad de cuidados críticos (tabla 4). Para su cálculo se utilizan los peores valores medidos durante las primeras 24 horas, en la UCI.

Una vez obtenida la puntuación SAPS II, y al igual que en el APACHE II, el cálculo de la probabilidad individual de mortalidad hospitalaria se establece a partir del *logit* de cada paciente, calculado mediante la ecuación:

$$\text{Logit} = -7,7631 + 0,0737(\text{puntuación SAPS II}) + 0,9971 [\ln(\text{puntuación SAPS II} + 1)]$$

El *logit* es convertido a probabilidad de mortalidad hospitalaria mediante la misma ecuación general, usada en la escala APACHE II.

$$\text{Pr} = e^{\text{logit}} / (1 + e^{\text{logit}})$$

Tabla 4. Escala de gravedad SAPS II (42).

PARÁMETROS	RANGOS(PUNTUACIÓN)									
Edad					<40 (0)	40-59 (7)	60-69 (12)	70-74 (15)	75-79 (16)	≥80 (18)
Fc			<40 (11)	40-69 (2)	70-119 (0)	120-159 (4)	≥160 (7)			
TAS			<70 (13)	70-99 (5)	100-199 (0)	≥200 (2)				
Tª (°C)					<39°C (0)	>39°C (3)				
PaO <sub>2</sub> mmHg/FiO <sub>2</sub>	<100 (11)	100-199 (9)	>200 (6)							
Diuresis (ml)/24h		<500 (11)	>500 (4)		>1000 (0)					
BUN mg/dl					<28 (0)	28-83 (6)	≥ 84 (10)			
Leucocitos x10 <sup>3</sup> /l				<1.0 (12)	1.0-19.9 (0)	≥20.3 (3)				
Potasio mM/l				<3.0 (3)	3.0-4.9 (0)	≥5.0 (3)				
Sodio mM/l				125 (5)	125-144 (0)	≥145 (1)				
Bicarbonato mM/l			<15 (6)	15-19 (3)	≥20 (0)					
Bilirrubina mg/dl					<4.0 (0)	4.0-5.9 (4)	≥6.0 (9)			
GCS	<6 (26)	6-8 (13)	9-10 (7)	11-13 (5)	14-15 (0)					
Enfermedad Crónica						Carcinoma metastásico (9)	Neoplasia hematológica (10)			SIDA (17)
Tipo Admisión					Cirugía Programada (0)	Causa médica (6)				Cirugía urgente (8)

BUN: nitrógeno ureico en sangre; Fc: frecuencia cardiaca; GCS: escala de coma de Glasgow; paO<sub>2</sub>: presión parcial arterial de oxígeno; SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida; TAS: tensión arterial sistólica; Tª: temperatura;

### C. SOFA.

La escala SOFA, fue diseñada en un estudio retrospectivo sobre una base de datos internacional de 1.643 enfermos sépticos a los que se le aplicó la escala en las primeras 24 horas de ingreso en la UCI, mostrándose una buena correlación con la mortalidad (43). La escala describe la presencia de disfunción de 6 sistemas orgánicos (tabla 5): respiratorio, cardiovascular, hematológico, renal, hepático y neurológico. Las variables son puntuadas de 0 a 4 puntos de acuerdo con el grado de disfunción o fracaso, siendo el 0 el valor asignado para una función normal. El fracaso de un órgano se determina por puntuaciones  $\geq 3$ . Se evalúa de forma diaria con la peor puntuación del día anterior, de esta forma es posible analizar un órgano de forma individual y al mismo tiempo obtener una puntuación global.

Tabla 5. Escala de gravedad SOFA (43).

Sistema orgánico	0	1	2	3	4
<b>Respiratorio</b> PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	<400	≤400	≤300	≤200 Con soporte	≤ 100 Con soporte
<b>Coagulación</b> Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	>150	≤150	≤100	≤50	≤20
<b>Hígado</b> bilirrubina (mg/d)	<1,2	1,2- 1,9	2,0-5,9	6,0-11,9	>11,9
<b>Cardiovascular</b> PAM (µg/kg/min)	70- 140	0-70	Dopa ≤ 0-5 o dobutamina	Dopa 5-15 Adren- NA 0.0-0.1	Dopa>15 Adren- NA>0.1
<b>Sistema nervioso</b> GCS	15	13-15	10-12	6-9	<6
<b>Renal</b> Creatinina (mg/dl)	<1,2	1,2-2	2-3.4	3,4-5	>5

Adren: adrenalina; Dopa: dopamina; GCS: escala de coma de Glasgow; NA: noradrenalina; PaO<sub>2</sub>: presión parcial arterial de oxígeno; PAM: presión arterial media.

## 4.6. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO.

### 4.6.1 RECOGIDA DE MUESTRA.

Las muestras rectales fueron obtenidas mediante hisopos en las primeras 12-24 horas de la admisión del paciente en la UCI-Q. Era de especial relevancia que la torunda estuviera completamente impregnada en heces. Las muestras fueron conservadas y transportadas a 4°C, se procesaron en el servicio de microbiología lo antes posible, sin superar las 48 h.

### 4.6.2. SELECCIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN.

**BLEE y cefamicinasas o AmpC plasmídicas.** Fue necesario emplear medios selectivos que permitieran recuperar enterobacterias resistentes a las cefalosporinas de 3ª generación y que evitaran el crecimiento de la microbiota comensal sensible. Aunque se ha demostrado la utilidad de diferentes medios, en nuestro caso, las muestras eran cultivadas en placas de agar MacConkey que contenía cefotaxima 4 mg/L. Este medio nos permitió detectar bacterias resistentes al antibiótico elegido, tanto productor de BLEE, como de AmpC e incluso carbapenemasas, que posteriormente debían ser confirmadas tanto la especie, como el mecanismo de resistencia. Además, en estos medios permiten el crecimiento de enterobacterias que poseen betalactamasas cromosómicas que hidrolizan las cefalosporinas y son inhibidas por el ácido clavulánico y cuya hiperproducción puede dar lugar a un patrón fenotípico de resistencia compatible con la presencia de BLEE.



**Carbapenemasas.** La mayoría de los medios selectivos para la detección de resistencia a cefalosporinas de 3<sup>a</sup> generación pueden ser usados para el cribado de carbapenemasas. No obstante, se perderían los aislamientos productores de carbapenemasas OXA-48, ya que esta no confiere resistencia a las cefalosporinas de 3<sup>a</sup> generación. Por lo tanto, se utilizaron diferentes medios selectivos para la detección específica de enterobacterias resistentes a antibióticos carbapenémicos. En nuestro caso, principalmente fueron cultivados en placas de agar MacConkey suplementado con concentraciones bajas de carbapenémicos con el uso de discos de 10 µg de imipenem o ertapenem.

Para la utilización de cualquiera de los medios basados en el cultivo se partió de una torunda rectal que se inoculó directamente en el medio y se procedía a la lectura a las 18-24 horas y a las 48 horas.

---

#### 4.6.3. PRUEBAS DE CONFIRMACIÓN.

El *European Committee on Antimicrobial Susceptibility* (EUCAST) recomienda estudiar la producción de carbapenemasas en las cepas en las que los valores de CMI de los carbapenémicos se incrementan por encima de los correspondientes puntos de corte epidemiológicos (tabla 6) (44) (45). Por tanto, se comprobó la hidrólisis de las carbapenemasas mediante espectrometría de masas, usando *matrix assisted laser desorption ionization time of flight* (MALDI-TOF; Bruker Daltonics, Inc., Billerica, MA) o bien mediante el test de Hodge modificado. En el primero de los casos se comparó el espectro MALDI-TOF generado por un antibiótico carbapenémico, no hidrolizado, con el obtenido tras la hidrólisis del anillo betalactámico por la carbapenemasa.

Tabla 6. Corte de cribado EUCAST y CLSI para la detección de EPC (44) (45).

Enterobacteriaceae	CLSI				EUCAST			
	CMI (mg/L)		Diámetro de halo (mg)*		CMI (mg/L)		Diámetro de halo (mg)*	
	S( $\leq$ )	R( $\geq$ )	S( $\leq$ )	R( $\geq$ )	S( $\leq$ )	R( $\geq$ )	S( $\leq$ )	R( $\geq$ )
<b>Imipenem</b>	1	4	23	19	2	8	22	16
<b>Meropenem</b>	1	4	23	19	2	8	22	16
<b>Ertapenem</b>	0.5	2	22	18	0.5	1	25	22
<b>Doripenem</b>	1	4	23	19	1	2	24	21

\*Diámetro de halo (mg) con discos de 10 mg.

CMI: concentración mínima inhibitoria; S: sensible; R: resistente.

En el segundo caso, el test de Hodge modificado se basa fundamentalmente en la inactivación del carbapenem por la carbapenemasa producida por una bacteria, lo que permite a una cepa indicadora y sensible a las carbapenemasas extender su crecimiento cerca del disco del carbapenem y a lo largo de la estría de la cepa productora de la carbapenemasas. Por tanto, el proceso consistió en la inoculación en una placa de Müller-Hinton con una suspensión 1:10 de 0,5 de McFarland de la cepa *E. coli* ATCC 25922, donde se añadió 10  $\mu$ L de una solución de 60 mg/ml de cloxacilina o 100 mg/ml de oxacilina a un disco de meropenem, imipenem o ertapenem. Se dejó inocular durante 10 minutos y se colocó en el centro de la placa inoculada. Se inoculó la cepa problema, entre 3-5 colonias formando una estría radial desde 2-3 mm del disco con carbapenémicos hacia el borde de la placa. Tras 18-24 horas de incubación a 35<sup>o</sup>-37<sup>o</sup>C durante 18-24 horas se examinó visualmente el margen del halo de inhibición en la zona adyacente a la estría. El principal problema de este test es que no permitía distinguir la carbapenemasa en

cuestión y es posible encontrar falsos positivos, principalmente en las cepas BLEE tipo CTX-M o AmpC. Por ello, se usaron pruebas de detección fenotípicas para las diferentes carbapenemasas.

#### 4.6.4. DETECCIÓN FENOTÍPICA DE LAS DIFERENTES CARBAPENEMASAS

Una vez detectada la cepa problema, era importante diferenciar el tipo de enzima carbapenemasa. En el caso de las enterobacterias, se sugiere que debe llevarse a cabo pruebas fenotípicas en aislamientos que presenten incluso pequeñas reducciones en la susceptibilidad a los carbapenémicos, incluyendo ertapenem.

Para realizar esta detección fenotípica (figura 7) es importante tener en cuenta el perfil hidrolítico general que confieren cada una de sus familias y de manera específica cada una de las enzimas incluidas en estas clases, la posible inactivación por los diferentes inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, la epidemiología local, la identidad del microorganismo en el que se pretende detectar o inferir la producción de estas enzimas, así como valorar la posibilidad de otros mecanismos de resistencia capaces de enmascarar el fenotipo que confieren las carbapenemasas.

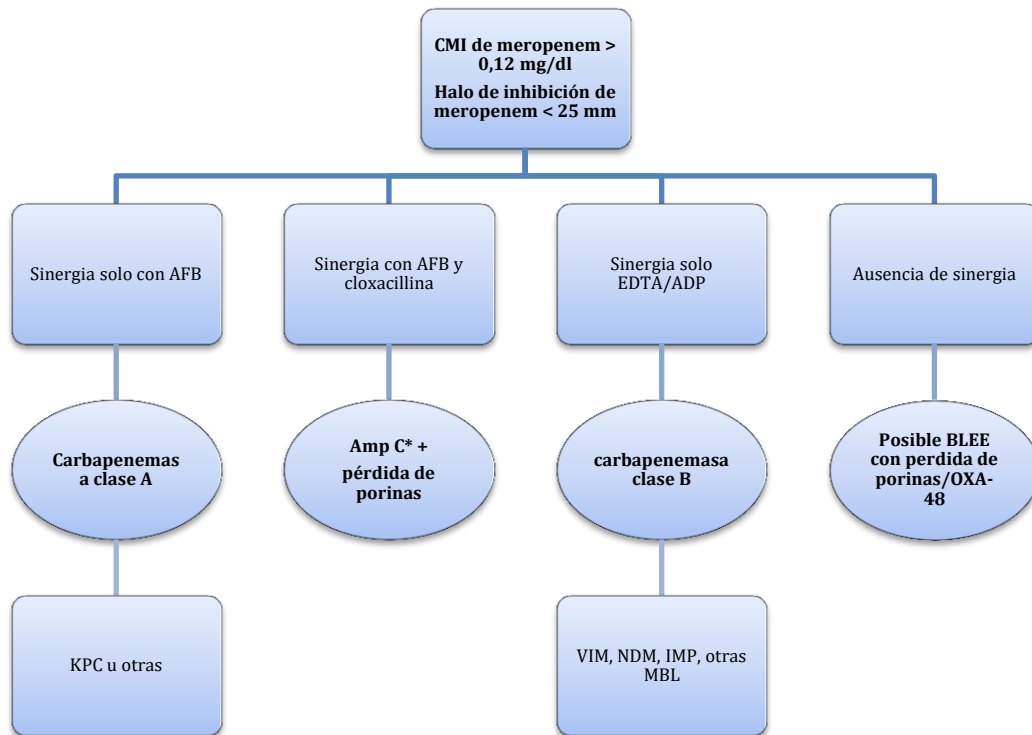
Como hemos mencionado anteriormente, las **carbapenemasas clase A** hidrolizan todos los betalactactámicos y son inhibidas por el ácido fenil borónico, por tanto los estudios fenotípicos para la caracterización de estas carbapenemasas se basan en la recuperación de la actividad de los antibióticos carbapenémicos en presencia de ese compuesto. Dichos estudios se realizaron mediante difusión disco-placa con disco de meropenem (10  $\mu$ g) con o sin ácido fenilborónico. Si se detectaba recuperación de la actividad de meropenem (halo  $\geq$  5 mm) con ácido fenil borónico

y cloxacilina se atribuyó la disminución de sensibilidad a los antibióticos carbapenémicos a la producción de AmpC más pérdida de porinas; si se detectaba recuperación sólo en presencia de ácido fenil borónico se sospechó la producción de carbapenemasa de clase A.

Las **carbapenemasas de clase B** hidrolizan todos los antibióticos carbapenémicos excepto aztreonam. Su detección se basa en la inhibición específica por quelantes del zinc como el EDTA y el ácido dipicolínico. Es frecuente que los aislamientos productores de carbapenemasa de clase B sean resistentes a aztreonam por la coproducción de BLEE o de  $\beta$ -lactamasas de tipo AmpC, ya sean cromosómicas o adquiridas. Siguiendo las recomendaciones del EUCAST se usaron discos de meropenem (10  $\mu$ g) con y sin EDTA o ácido dipicolínico. La recuperación de la actividad de meropenem (halo  $\geq$  5 mm) se interpretó como la producción de una carbapenemasa de clase B.

Las **carbapenemasas de clase D**, principalmente OXA-48, hidrolizan en mayor o menor grado antibióticos carbapenémicos sin afectar o haciéndolo a muy bajo nivel a las cefalosporinas de amplio espectro, en el primer caso a la ceftazidima y cefepime y en el segundo a la cefotaxima. Estas enzimas no se inhiben por ácido clavulánico, ácido fenil borónico, cloxacilina, EDTA o ácido dipicolínico, pero si suelen presentar resistencia de alto nivel a temocilina ( $>$  64 mg/L) y piperacilina/tazobactam. En un primer lugar se detectó una disminución de la sensibilidad a algún antibiótico carbapenémico, cuya actividad no se recuperó con ningún inhibidor y presentó alto nivel de resistencia a temocilina y peracilina-tazobactam, considerando tanto las cepas sensibles a cefalosporinas de 3<sup>a</sup> generación como las que presentaron un perfil de producción de BLEE. Dado que no son marcadores específicos, ni la temocilina ni la peracilina-tazobactam, se

realizaron métodos genotípicos para la confirmación, como se detallará más adelante.



\*Amp C cromosómico o plasmídico.

ADP: ácido dipicolínico; AFB: ácido fenil borónico; BLEE: beta-lactamasa de espectro extendido; CMI: concentración mínima inhibitoria; EDTA: ácido etildiaminotetraacético.

**Figura 7. Algoritmo de actuación para la confirmación de mecanismos de resistencia a antibióticos carbapenémicos en enterobacterias.**

#### 4.6.5. TÉCNICAS MOLECULARES

Cada vez se describen con más frecuencia cepas que producen dos tipos de carbapenemasas distintas e incluso cepas que producen dos tipos de carbapenemasas y además una BLEE. En estas situaciones la utilización de los

métodos fenotípicos con inhibidores proporciona resultados variables, ya que la producción en mayor cantidad de una enzima puede enmascarar los efectos de la otra y dar falsos negativos. Por esta razón se usaron métodos moleculares rápidos que permitieron detectar genes adquiridos de resistencia a antibióticos betaláctamicos de amplio espectro y carbapenemasas mediante PCRs (*Polimerase Chain Reaction* o reacción en cadena de la polimerasa). Otro importante uso es la detección fenotípica de las EPC tipo OXA que no tienen estudios fenotípicos específicos. La técnica consiste en la amplificación de un fragmento de ADN particular, delimitado por un par de cebadores o “*primers*” (oligonucleótidos complementarios a los extremos de la secuencia a amplificar). La PCR se basa en la síntesis de ADN por la enzima ADN polimerasa y en la utilización de dos cebadores de polaridad opuesta y de secuencia complementaria a cada uno de los extremos 3’ del fragmento de ADN de doble cadena que queremos amplificar. Esta técnica presenta una gran sensibilidad y especificidad para la detección específica de genes. Se puede realizar utilizando una única pareja de cebadores, PCR simple; o utilizando varias parejas de cebadores para amplificar varios fragmentos génicos al mismo tiempo, PCR múltiple. En nuestro caso usamos *primers* específicos como *blaKPC*, *blaIMP*, *blaNMD* y *blaOXA-48* y genes BLEE. (TEM, SHV, CTX-M y OXA-1). La relación genética de las *K. pneumoniae* productoras de carbapenemasas aisladas se basó en el esquema propuesto por el Instituto Pasteur en su base de datos MLST (*multilocus sequence typing*) (46)

#### 4.7. ESTADÍSTICA.

Toda la información se incluyó en una base de datos electrónica en formato Microsoft Excel, que más tarde fue importada para su tratamiento estadístico en el programa IBM® SPSS® versión 21 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU).

Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias absolutas y frecuencias relativas expresadas en porcentaje. La comparación de las proporciones se realizó mediante la prueba del Chi-cuadrado y la prueba exacta de Fisher cuando fue necesario. Para las variables cuantitativas, dado que los datos no mostraron normalidad en la prueba de Kolmogorov-Smirnoff, se utilizaron las pruebas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney cuando fue necesario. Se realizaron análisis bivariados para comparar todas las variables entre pacientes que no presentaron colonización rectal para EPC y pacientes que presentaron colonización rectal para EPC. La representación gráfica de las variables se realizó con diagrama de sectores, diagramas de cajas y diagramas de dispersión.

Los modelos de regresión logística (procedimiento escalonado) se realizaron utilizando "colonización por EPC" como variable dependiente y los que mostraban diferencias ( $p < 0,05$ ) en los análisis bivariados como variables independientes. Las interacciones y la dependencia lineal entre variables independientes fueron previamente controladas. Se consideró que el modelo muestra la máxima parsimonia (el menor número de variables sin reducción significativa en el valor del coeficiente de determinación) y el  $R^2$  más alto.

## RESULTADOS



## 5. RESULTADOS

### 5.1. POBLACIÓN A ESTUDIO. CARACTERÍSTICAS

Como se comentó anteriormente, se trata de un estudio, observacional, casos y controles, retrospectivo sobre una población de 254 pacientes ingresados en la UCI-Q del Hospital Universitario La Paz desde enero de 2012 hasta diciembre de 2013.

Durante enero de 2012 hasta diciembre de 2013, ingresaron 2.317 pacientes. Del total de pacientes ingresados cumplieron criterios de inclusión 259 pacientes (figura 8).

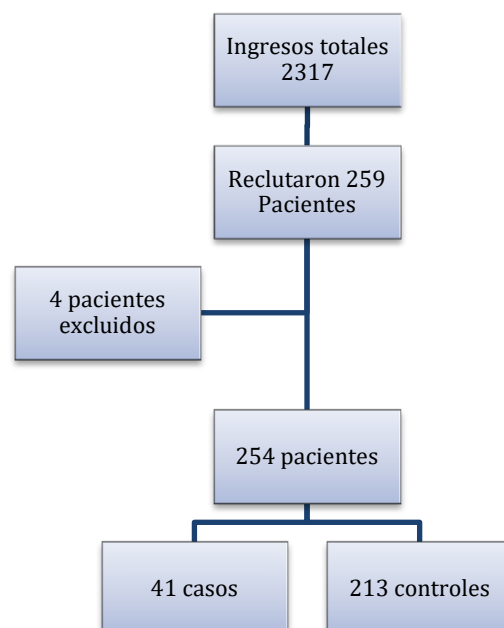


Figura 8. Selección de pacientes.

Cuatro pacientes del total de 259 reclutados fueron descartados por falta de información recogida en la historia clínica. Cuarenta y uno de los pacientes estaban colonizados por EPC y 213 se incluyeron dentro del grupo control como no colonizados por EPC.

## 5.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVOS

### 5.2.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN

La edad media de los pacientes fue de 65,73 años (18,50-95,50 años) (Tabla 7). Un 63,4 % de los pacientes eran varones y el 36,6 % eran mujeres (figura 9). Solo cuatro de los pacientes recogidos vivían en una residencia de ancianos.

Tabla 7. Características demográficas de la población.

		Total (N=254)
<b>Edad</b>		65,73 ±15.05 años
<b>Género</b>	Hombres	161 (63,4%)
	Mujeres	93 (36,6%)

N: población a estudio.

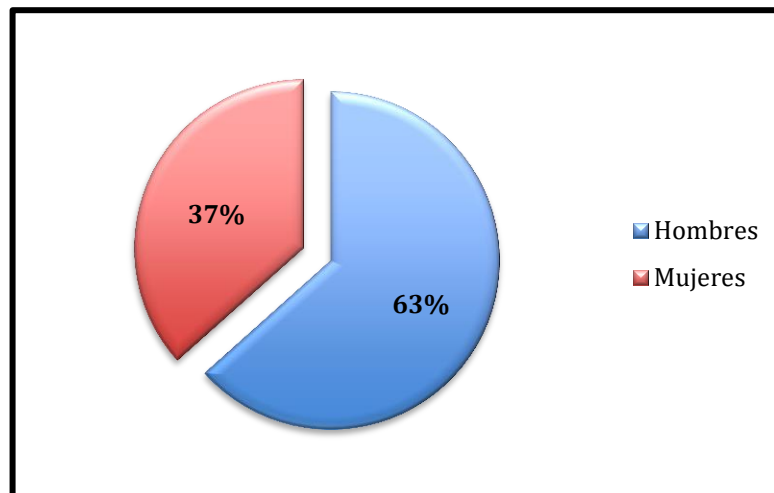


Figura 9. Distribución de pacientes por género.

---

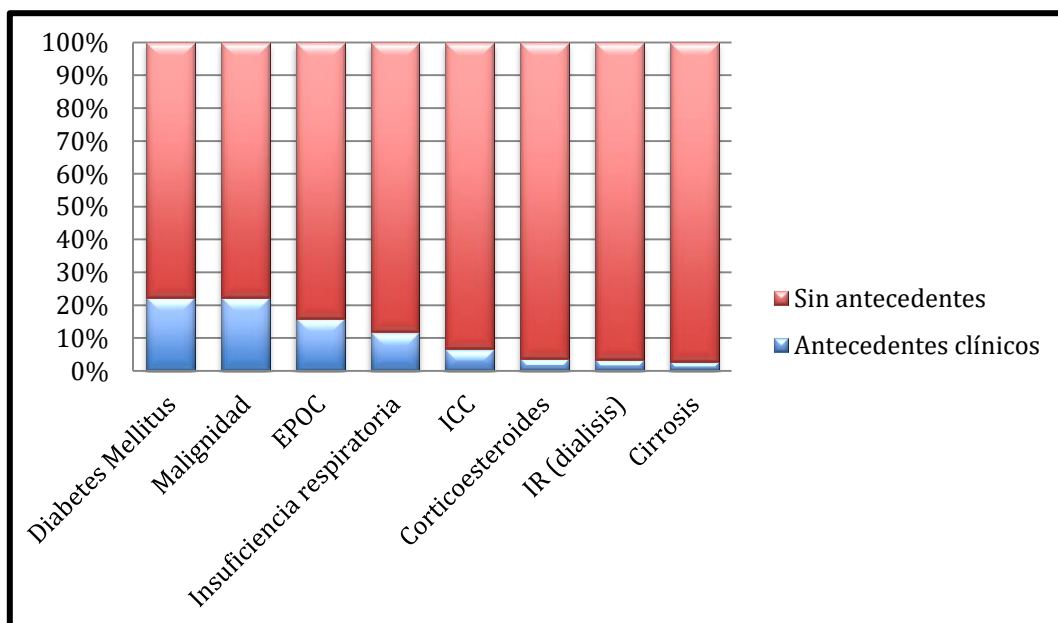
#### 5.2.2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA MUESTRA

La patología más frecuente presentada (tabla 8 y figura 10) la diabetes mellitus y la neoplasia de órganos sólido/hematológico, ambos con un 22,4% de los pacientes; seguido de EPOC (16,1%) y de insuficiencia respiratoria al ingreso (11,9%). Se registraron un total de 10 pacientes en tratamiento con corticoesteroides.

Tabla 8. Características clínicas de la muestra.

	N (%)
<b>Diabetes Mellitus</b>	57 (22,4)
<b>Tumores de órgano sólido o neoplasia</b>	57 (22,4)
<b>EPOC</b>	41 (16,1)
<b>Insuficiencia respiratoria al ingreso</b>	30 (11,9)
<b>ICC</b>	17 (6,7)
<b>Tratamiento con corticoesteroides</b>	10 (3,9)
<b>Insuficiencia renal crónica (diálisis)</b>	9 (3,5)
<b>Cirrosis</b>	7 (2,8)

EPOC: enfermedad obstructiva crónica; ICC: Insuficiencia cardiaca congestiva; N: tamaño de la muestra (254).



EPOC: enfermedad obstructiva crónica; ICC: Insuficiencia cardiaca congestiva.

Figura 10. Diagrama de barras. Distribución de las patologías previas al ingreso.

La mediana de las escalas de gravedad (tabla 9) en el momento del ingreso fueron 30,0 para SAPS II; 12,0 para APACHE II; y 3,0 para SOFA.

**Tabla 9. Escalas de gravedad al ingreso.**

<b>Escala de gravedad al ingreso. N=254</b>	
<b>Mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)</b>	
<b>SOFA</b>	3,0 (2,0-6,0)
<b>SAPS II</b>	30 (25,0-42,0)
<b>APACHE II</b>	12,0 (8,0-16,0)

N: tamaño muestral (254).

Un total de 102 (40,2%) pacientes habían tenido algún ingreso previo en los últimos 12 meses; un 10,6% había estado ingresado en una unidad de cuidados críticos (UCI/UCI-Q) en los últimos doce meses, siendo la mediana 4 días (tabla 10).

Tabla 10. Hospitalización y eventos quirúrgicos/invasivos.

	N (%)
<b>Hospitalización (últimos 12 meses)</b>	102 (40,2)
<i>Nº de días de ingreso, mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)</i>	0,0 (0,0-9,0)
<b>Ingreso previo en UCI/UCI-Q (últimos 12 meses)</b>	27 (10,6)
<i>Nº de días de ingreso, mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)</i>	4,0 (2,0-9,0)
<b>Cirugía electiva (últimos 12 meses)</b>	44 (17,5)
<b>Procedimiento endoscópico, biliar o digestivo (últimos 12 meses)</b>	68 (26,8)
<b>Cirugía abdominal (últimos 30 días)</b>	27 (10,7)
<b>Cirugía urgente (últimos 30 días)</b>	11 (4,3)

N: tamaño muestral (254).

En cuanto a los procedimientos quirúrgicos el 17,5% de los pacientes ingresados se habían sometido a cirugía electiva en los últimos 12 meses (tabla 10) y un 26,8 % se les había realizado algún procedimiento endoscópico biliar o digestivo en el último año.

### 5.2.3. TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO PREVIO.

Un 29,9% de la muestra había recibido tratamiento antibiótico previo. Veintidós pacientes recibieron dos o más antibióticos simultáneo al día durante más de tres días en los seis meses previos. Como se puede ver en la tabla 11, el antibiótico más frecuentemente administrado fue un  $\beta$ -lactámico asociado a un inhibidor de la  $\beta$ -lactamasa (16,1%), seguido por los carbapenems (13,0%) y las quinolonas en tercer lugar (11,4%). De los pacientes en los que se administró carbapenems se

registró que 30 pacientes habían recibido meropenem, dos ertapenem y meropenem y tan solo uno de ellos imipenem.

Tabla 11. Tratamiento antibiótico previo.

	N (%)
<b>Antibioterapia*</b>	76 (29,9)
<b>Carbapenems</b>	33 (13,0)
<b><math>\beta</math>-lactámico + inhibidor de la <math>\beta</math>-lactamasas</b>	41 (16,1)
<b>Quinolonas</b>	29 (11,4)
<b>Cefalosporinas de tercera y cuarta generación</b>	15 (5,9)
<b>Linezolid</b>	13 (5,1)
<b>Aminoglucósidos</b>	6 (2,4)
<b>Daptomicina</b>	7 (2,8)
<b>Glucopéptidos</b>	5 (2,0)
<b>Metronidazol</b>	11 (4,3)
<b>Tigeciclina</b>	7 (2,8)
<b>Colistina</b>	2 (0,8)
<b>Clindamicina</b>	4 (1,6)
<b>Sulfametoxazol/trimetoprim</b>	3 (1,2)
<b>Azitromicina</b>	2 (0,8)

\*Tratamiento antibiótico durante más de tres días en los seis meses previos.

### 5.3. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES COLONIZADOS POR EPC.

#### 5.3.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LOS PACIENTES COLONIZADOS.

La edad media de los pacientes colonizados era ligeramente superior a los pacientes no colonizados (68,73 % vs 65,17 %) sin encontrar significación estadística. Las diferencias de género eran similares a los no colonizados como se puede ver en la tabla 12 (63,8% varones no colonizados frente a 61,0%).

Tabla 12. Diferencia de género entre pacientes colonizados por EPC y no colonizados.

		Género		Total	
		Femenino	Masculino		
<b>Colonización EPC</b>	No	Nº Pacientes	77	136	213
		Colonización EPC (%)	36,2	63,8	100,0
		Género (%)	82,8	84,5	83,9
		Total (%)	30,3	53,5	83,9
	Si	Nº Pacientes	16	25	41
		Colonización EPC (%)	39,0	61,0	100,0
		Género (%)	17,2	15,5	16,1
		Total (%)	6,3	9,8	16,1
<b>Total</b>	Nº Pacientes	93	161	254	
	Colonización EPC (%)	36,6	63,4	100,0	
	Género (%)	100,0	100,0	100,0	
	Total	36,6	63,4	100,0	

EPC: enterobacteria productora de carbapenemasa.



### 5.3.2. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y ASOCIACIÓN CON COLONIZACIÓN CON BLEE.

De un total de 254 pacientes, 41 (16,1%) fueron colonizados por EPC (figura 11). Cinco de los pacientes colonizados por EPC mostraron coexistencia de dos cepas productoras de carbapenemasas.

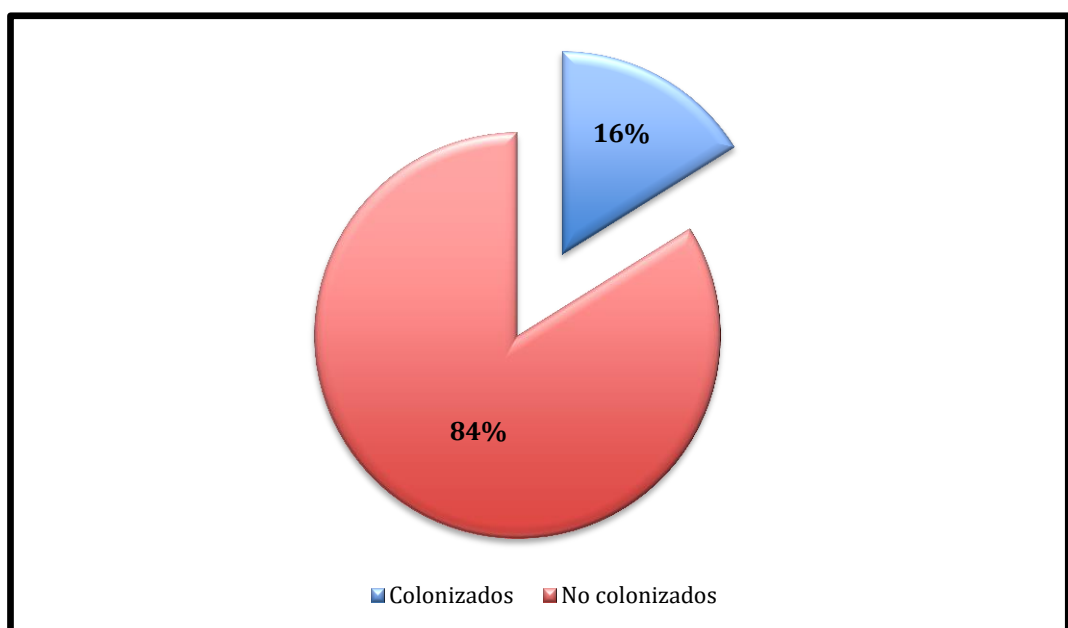


Figura 11. Proporción de pacientes colonizados por Enterobacterias productoras de carbapenemasas.

La mayoría de las EPC registradas fueron *K. pneumoniae* (39 de 41; 95,12%) (tabla 13). La enzima carbapenemasa más frecuentemente aislada fue OXA-48 (31 de 41, es decir un 75,6%). En veintidós de estos 31 aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* OXA 48 (71,0%) pudo secuenciarse el genoma. De ellos, 13 (59,1%) fueron ST11, siete ST405 (31,8%) y dos ST323 (9,1%).

Tabla 13. Especies de carbapenemasas y BLEE encontradas en 41 pacientes colonizados por EPC.

Nº pacientes	OXA- 48	VIM-1	KPC	Nº pacientes BLEE*
28	K.pneumoniae			27
2	E.coli			1
1	K.pneumoniae + E. coli			1
4		K.pneumoniae		2
1		K. oxytoca		0
1		K.pneumoniae + E. coli		1
1	K.pneumoniae	K.pneumoniae		0
1	K.oxytoca	K.pneumoniae		1
1	K.pneumoniae	P.aeruginosa		1
1			K.pneumoniae	1

\* Número de pacientes colonizados por EPC con coexistencia de enterobacterias productoras de BLEE.

Nº: número

Como se puede ver en la tabla 14, del total de 254 pacientes se aislaron 45 que estaban colonizados por BLEE (17,7%). Se encontró una fuerte asociación entre EPC y de producción de BLEE ( $X^2 = 153,488$ ,  $p < 0,0001$ ). El perfil de los genes betalactamasa fue diferente a los encontrados en EPC en ST11 (TEM-116, SHV-11 y OXA-1) y ST405 (TEM-1, SHV-76; CTX-M15 y OXA-1).

Tabla 14. Tabla de contingencia de pacientes colonizados por EPC y por BLEE.

		Pacientes colonizados previamente BLEE		Total	
		No	Si		
<b>Colonización EPC</b>	No	Nº pacientes	203	10	213
		Colonización EPC (%)	95,3	4,7	100,0
		Colonización BLEE (%)	97,1	22,2	83,9
		Total (%)	79,9	3,9	83,9
	Sí	Nº pacientes	6	35	41
		Colonización EPC (%)	14,6	85,4	100,0
		Colonización BLEE (%)	2,9	77,8	16,1
		Total (%)	2,4	13,8	16,1
<b>Totales</b>	Nº pacientes	209	45	254	
	Colonización EPC (%)	82,3	17,7	100,0	
	Colonización BLEE (%)	100,0	100,0	100,0	
	Total (%)	82,3%	17,7%	100,0	

### 5.3.3. COMPARACIÓN DE FACTORES DE RIESGOS ENTRE PACIENTES COLONIZADOS FRENTE A LOS NO COLONIZADOS.

Si nos fijamos en las diferencias entre ambos grupos (tabla 15), el grupo de los colonizadores tenía una mayor incidencia de neoplasias hematológicas o sólidas (29,3% Vs 21,1%). La segunda patología más frecuente en este grupo de pacientes era la diabetes mellitus (26,8% Vs 26,8%) ligeramente mayor que los pacientes no colonizados sin significación estadística. Hasta un 24,4% presentaron insuficiencia respiratoria aguda en el momento del ingreso, en comparación con el 9,4% de los

pacientes no colonizados ( $p < 0,014$ ). Un 17,1% estaba diagnosticado de EPOC. Tres pacientes tenían antecedentes de ICC y cuatro pacientes precisaban corticoesteroides de forma crónica. Cuatro pacientes tenían insuficiencia renal crónica y tres cirrosis. Siendo solo estadísticamente significativo en el análisis bivariado la presencia de insuficiencia respiratoria aguda al ingreso e insuficiencia renal asociada a hemodiálisis.

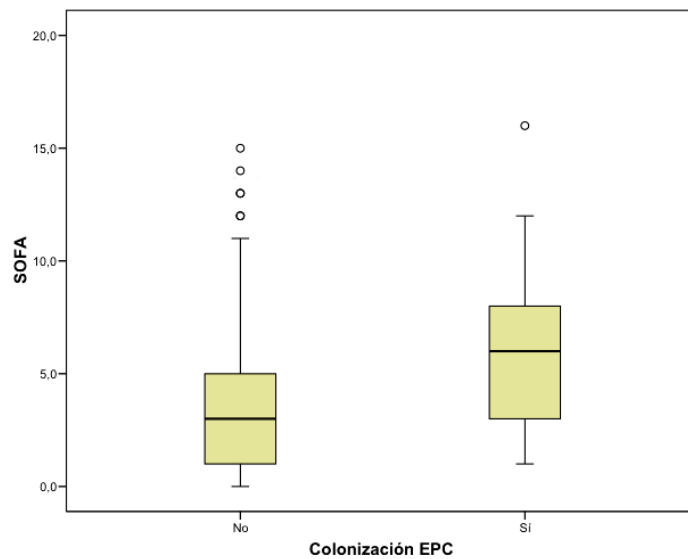
**Tabla 15. Comparación de factores de riesgo de los pacientes colonizados frente a los no colonizados**

	<b>Total (N=254)</b>	<b>Colonizados (N=41)</b>	<b>No colonizados (N=213)</b>	<b>p</b>
<b>Diabetes Mellitus</b>	57 (22,4)	11 (26,8)	46 (21,6)	0,540
<b>Tumores de órgano sólido o neoplasia</b>	57 (22,4)	12 (29,3)	45 (21,1)	0,173
<b>EPOC</b>	41 (16,1)	7 (17,1)	34 (16,0)	0,819
<b>Insuficiencia respiratoria al ingreso</b>	30 (11,9)	10 (24,4)	20 (9,4)	0,014
<b>ICC</b>	17 (6,7)	3 (7,3)	14 (6,6)	0,743
<b>Tratamiento con corticoesteroides</b>	10 (3,9)	4 (9,8)	6 (2,8)	0,059
<b>Insuficiencia renal crónica (diálisis)</b>	9 (3,5)	4 (9,8)	5 (2,3)	0,040
<b>Cirrosis</b>	7 (2,8)	3 (7,3)	4 (1,9)	0,086

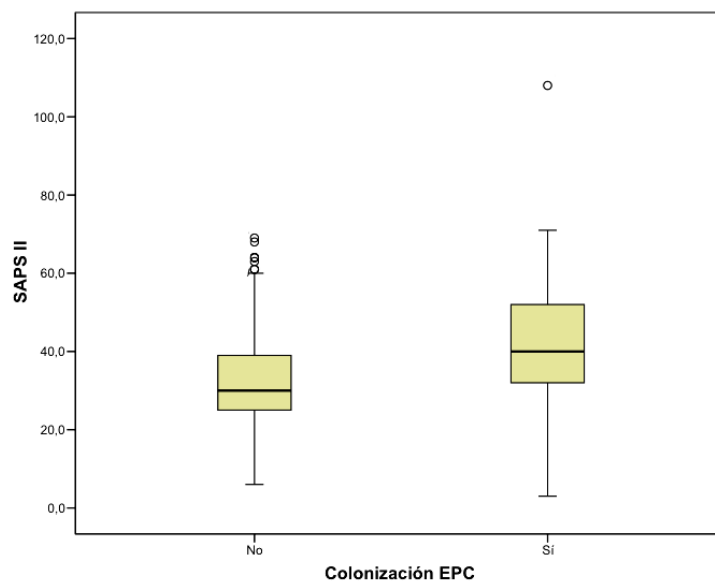
EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; ICC: insuficiencia cardiaca congestiva

La mediana de las escalas de gravedad en el momento del ingreso fueron estadísticamente significativas para la escala SAPS II (40,0 vs 30,0;  $p < 0,001$ ); para la escala APACHE II (15,00 vs 11,00;  $p < 0,001$ ); y para la escala SOFA (6,0 vs 3,0;  $p < 0,001$ ).

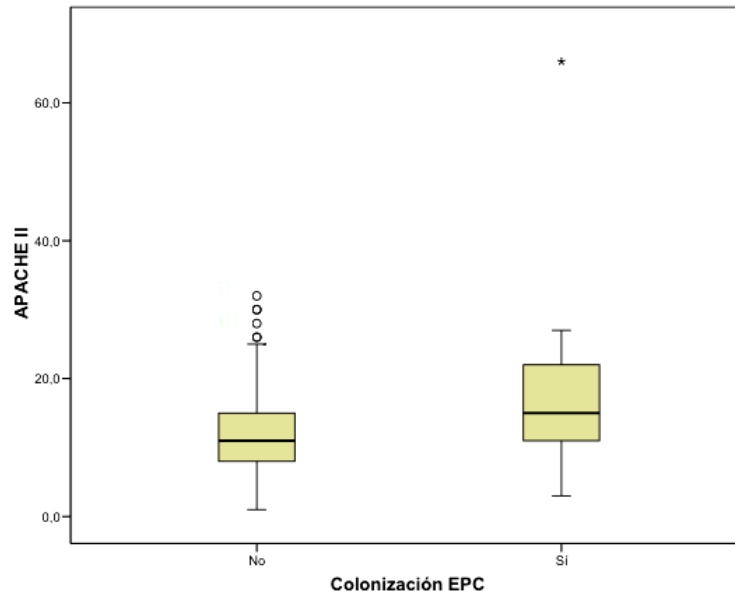
En las tres escalas de gravedad se encontraron claras diferencias entre los pacientes colonizados por EPC y los no colonizados como se aprecia en los diagramas de cajas (Figura 12-14).



**Figura 12. Diagrama de cajas. Comparación de la escala de gravedad SOFA en los pacientes colonizados y los no colonizados por EPC.**



**Figura 13. Diagrama de cajas. Comparación de la escala de gravedad SAPS II en los pacientes colonizados y los no colonizados por EPC.**



**Figura 14. Diagrama de cajas. Comparación de la escala de gravedad APACHE II en los pacientes colonizados y los no colonizados por EPC.**

*\*Nota: En los diagramas de cajas, se representan con un círculo (O) los valores alejados (es decir, aquellos valores de las colas que se alejan del cuarto superior  $H_3$  o del cuarto inferior  $H_1$ , una distancia superior a 1,5 veces la amplitud intercuartil  $H_3-H_1$ ). Se representan con un asterisco (\*) aquellos valores  $x_i$  de la distribución que se alejan del cuarto inferior  $H_1$  por la cola izquierda o del cuarto superior  $H_3$  por la cola derecha, una distancia superior a 3 veces la amplitud intercuartil.*

El 82,9% de los pacientes colonizados frente al 31,9 % de los pacientes no colonizados ( $p < 0.001$ ) habían estado ingresados previamente (tabla 16). La mediana días de hospitalización previa fue 21,5 para los colonizados y 0 para los no colonizados, el resultado era estadísticamente significativo. El 34,1 % de los pacientes colonizados habían estado ingresados previamente en una unidad de cuidados críticos frente al 6,1% ( $p < 0,001$ ). El 51,2% de los pacientes colonizados se

había sometido a alguna cirugía programada en los último 12 meses ( $p < 0,001$ ) y 5 pacientes de los 41 habían sido operados de urgencia en el último mes. Otro dato significativo es que el 58,5% de los colonizados frente al 20,7% de los no colonizados, habían precisado alguna prueba endoscópica en los últimos 12 meses ( $p < 0,001$ ).

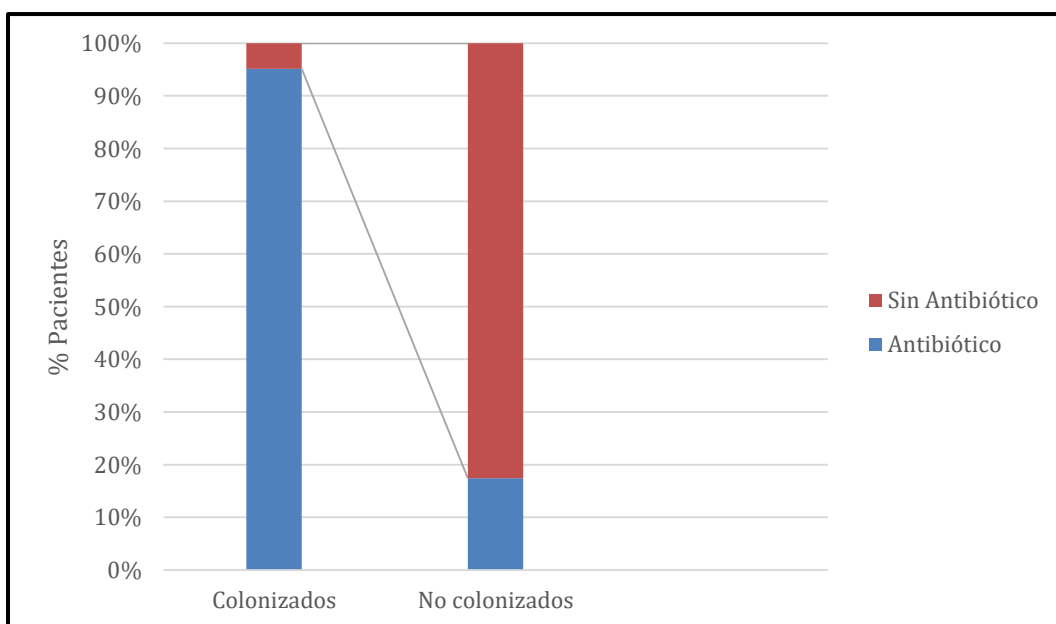
**Tabla 16. Comparación de tiempo de hospitalización y eventos quirúrgicos/invasivos entre pacientes colonizados y no colonizados.**

	<b>Total (n=254)</b>	<b>Colonizados (n=41)</b>	<b>No colonizados (N=213)</b>	<b>p</b>
<b>Hospitalización (últimos 12 meses)</b>	102 (40,2)	34 (82,9)	68 (31,9)	<0,001
<i>Nº de días de ingreso, mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)</i>	0,0 (0,0-9,0)	21,5(12,0-38,0)	0,0 (0,0-3,0)	<0,001
<b>Ingreso previo en UCI/UCI-Q (últimos 12 meses)</b>	27 (10,6)	14 (34,1)	13 (6,1)	<0,001
<i>Nº de días de ingreso, mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)</i>	4,0 (2,0-9,0)	3,0(2,0-16,8)	5,0(2,0-7,5)	0,788
<b>Cirugía electiva (últimos 12 meses)</b>	44 (17,5)	21 (51,2)	23 (10,3)	<0,001
<b>Procedimiento endoscópico, biliar o digestivo (últimos 12 meses)</b>	68 (26,8)	24 (58,5)	44 (20,7)	<0,001
<b>Cirugía abdominal (últimos 30 días)</b>	27 (10,7)	16 (39,0)	11(5,2)	<0,001
<b>Cirugía urgente (últimos 30 días)</b>	11 (4,3)	5 (12,2)	6 (2,8)	<0,001

Nº: número

#### 5.3.4. DIFERENCIAS EN LA ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO EN LOS PACIENTES COLONIZADOS FRENTE A LOS NO COLONIZADOS.

Como se puede visualizar en la figura 15, un 95,1 % de los pacientes colonizados había recibido tratamiento antibiótico previo frente a el 17,4 % de los no colonizados ( $p < 0,001$ ).



**Figura 15. Relación de paciente portadores de EPC frente a los pacientes que han recibido o no antibióticos en los últimos seis meses antes del ingreso en UCI-Q.**

La mayoría de los pacientes colonizados (24,4%) recibieron al menos uno o dos antibióticos diferentes en los últimos seis meses durante más de tres días y un 39,0% de los pacientes colonizados recibió dos antibióticos simultáneamente (tabla 17). El mayor consumo de antibióticos simultáneos se relacionó con mayor incidencia de colonización por EPC ( $p < 0,001$ ).



Tabla 17. Pacientes en los que se le habían administrado antibióticos los seis meses previos al ingreso y número máximo de antibióticos administrados al día.

		<b>Total</b> <b>(n=254)</b>	<b>Colonizados</b> <b>(n=41)</b>	<b>No colonizados</b> <b>(N=213)</b>
<b>Nº de AB administrados</b>	0	178 (70,1)	2 (4,9)	176 (82,6)
	1	24 (7,5)	10 (24,4)	14 (6,6)
	2	19 (7,5)	10 (24,4)	9 (4,2)
	3	17 (6,7)	7 (17,1)	10 (4,7)
	4	8 (3,1)	5 (12,2)	3 (1,4)
	5	4 (1,6)	4 (9,8)	0 (0,0)
	6	2 (0,8)	2 (4,9)	0 (0,0)
	8	1 (0,4)	0 (0,0)	1 (0,5)
	9	1 (0,4)	1 (2,4)	0 (0,0)
	<b>Nº de AB administrados simultáneos al día</b>	0	178 (70,1)	2 (4,9)
1		30 (11,8)	15 (36,6)	15 (7,0)
2		30 (11,8)	16 (39,0)	14 (6,6)
3		14 (5,5)	7 (17,1)	7 (3,3)
4		2 (0,8)	1 (2,4)	1(0,5)

Ab: antibiótico

Como se puede ver en la tabla 18, el antibiótico más frecuentemente administrado en los pacientes colonizados fue un betalactámico asociado a un inhibidor de la betalactamasa (58,5% frente a un 8% en los pacientes no colonizados;  $p < 0,001$ ), seguido por los carbapenems (43.9% frente a un 7,0%;  $p < 0,001$ ), las quinolonas (36.6% frente a un 6,6 %;  $p < 0,001$ ) y las cefalosporinas con un (24.4% frente a un 2,3%;  $p < 0,001$ ).

Tabla 18. Comparación del tratamiento antibiótico previo al ingreso entre los pacientes colonizados por EPC y los no colonizados

	Total N=254 (%)	Colonizados N=41 (%)	No colonizados N=213 (%)	p
<b>Antibioterapia*</b>	76 (29,9)	39 (95,1)	37 (17,4)	<0,001
<b>Carbapenems</b>	33 (13,0)	18 (43,9)	15 (7,0)	<0,001
<b><math>\beta</math>-lactámico + inhibidor de la <math>\beta</math>-lactamasas</b>	41 (16,1)	24 (58,5)	17 (8,0)	<0,001
<b>Quinolonas</b>	29 (11,4)	15 (36,6)	14 (6,6)	<0,001
<b>Cefalosporinas de tercera y cuarta generación</b>	15 (5,9)	10 (24,4)	5 (2,3)	<0,001
<b>Linezolid</b>	13 (5,1)	6 (14,6)	7 (3,3)	0,009
<b>Aminoglucósidos</b>	6 (2,4)	5 (12,2)	1 (0,5)	<0,001
<b>Daptomicina</b>	7 (2,8)	5 (12,2)	2 (0,9)	0,001
<b>Glucopéptidos</b>	5 (2,0)	4 (9,8)	1 (0,5)	0,003
<b>Metronidazol</b>	11 (4,3)	3 (7,3)	8 (3,8)	0,392
<b>Otros</b>	9 (3,6)	6 (14,6)	3 (1,4)	0,002

\*Tratamiento antibiótico durante más de tres días en los seis meses previos.

### 5.3.5. PREVALENCIA DE INFECCIÓN EN LOS PACIENTES COLONIZADOS

Diecisiete de los 41 pacientes colonizados (39,0%) desarrollaron algún tipo de infección (figura 19). Se aisló la misma cepa de EPC que en el frotis rectal en hemocultivo (cuatro muestras), urocultivo (5 muestras), aspirado broncoalveolar (6 muestras) y cultivo de líquido peritoneal (7 muestras)

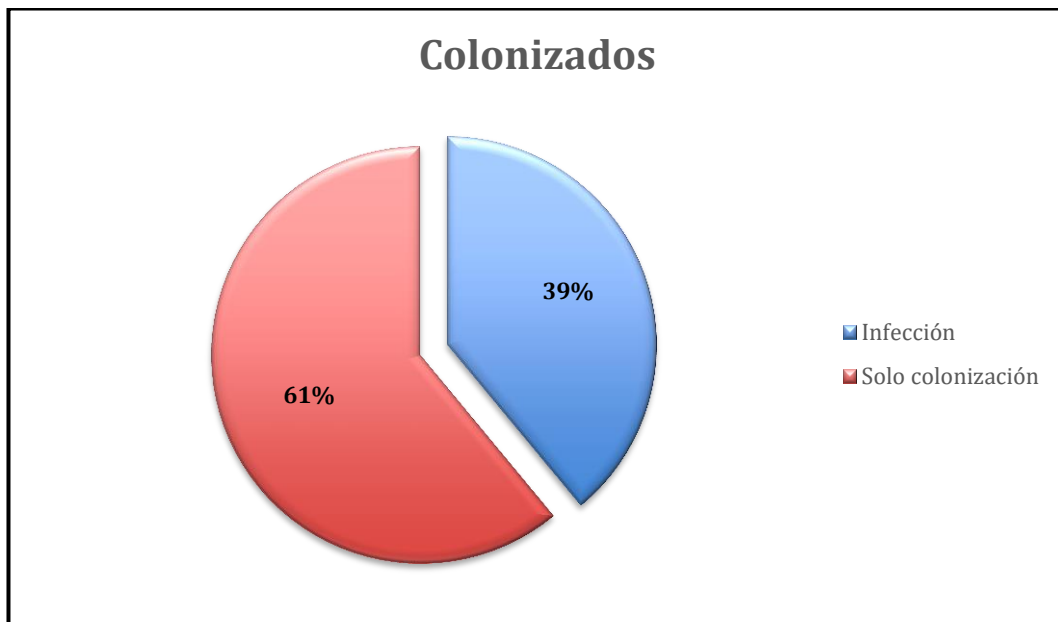


Figura 16. Prevalencia de infección por EPC

#### 5.4. FACTORES DE RIESGO PARA COLONIZACIÓN POR EPC

Por último, en el análisis multivariante realizado mediante regresión de *Cox* se analizaron todas las variables que mostraron diferencias significativas en los análisis bivariados ( $p < 0,05$ ). Tras su realización ( $R^2 = 0,309$ ,  $p < 0,001$ ), la colonización por EPC se asoció con la administración previa de cefalosporinas de 3<sup>a</sup> y 4<sup>a</sup> generación (OR = 27,96, IC95% = 6,88, 113,58,  $p < 0,001$ ), betalactámicos/inhibidores de la betalactamasa (OR = 11,71, IC del 95% = 4,51, 30,43,  $p < 0,001$ ), cirugía abdominal (OR = 6,33, IC del 95% = 2,12, 18,89,  $p = 0,001$ ) y endoscopia digestiva / biliar previa (OR= 3,88, IC del 95%: 1,56, 9,67,  $p = 0,004$ ).

## DISCUSIÓN

## 5.DISCUSIÓN

### 5.5. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES COLONIZADOS POR EPC. PREVALENCIA DE PORTADORES RECTALES

El presente estudio evaluó los factores de riesgo para la colonización rectal asintomática por EPC en el ingreso en la UCI-Q. Se escogió una muestra representativa de nuestra población a través de un muestreo de casos consecutivos, incluyendo a la totalidad de todos los pacientes ingresados durante más de 24 horas en la UCI-Q. Existen pocos estudios que se centren en poblaciones de pacientes ingresados en unidades de cuidados críticos (47) y los que existen se centran en el riesgo de infección de los pacientes ya colonizados por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas (48) (49). Como se muestra en la tabla 19, las características poblacionales son comparables a los estudios publicados hasta el momento.

Tabla 19. Comparación entre la población a estudio y registros similares de pacientes colonizados por EPC

	Número de pacientes	Pacientes colonizados	Edad (años)	Género masculino (%)	Reclutamiento pacientes	Klebsiella pneumoniae (%)	EPC más frecuente
<b>Dautzenberg et al. (47)</b>	1007	132	65,5	37,9	UCI	94,7	KPC
<b>Dickstein et al (50)</b>	438	146	53,7	61,0	UCI	91,09	-
<b>Madueño et al. (51)</b>	-	167	70	61,5	Hospital terciario	100%	OXA-48
<b>Salgado et al.</b>	259	41	68,73	61	UCI-Q	95,12	OXA-48

EPC: enterobacterias productoras de carbapenemasas; UCI: Unidad de cuidados intensivos; UCI-Q: Unidad de Cuidados Intensivos Quirúrgicos

## 5.6. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS EN EL PACIENTE CRÍTICO

Algunos estudios como el realizado por Heyley et al (36) han encontrado una mayor prevalencia de bacterias multirresistentes en unidades de cuidados críticos. Los pacientes críticos son enfermos especialmente vulnerables a contraer infecciones nosocomiales por diversas causas, como puede ser la existencia de una mayor presión antibiótica o presentar alguna comorbilidad.

La mayoría de los pacientes colonizados en el presente estudio tenían enfermedades con condiciones concomitantes, siendo la insuficiencia renal y la insuficiencia respiratoria las que mostraron en el análisis bivariado significación estadística con la colonización rectal por EPC (tabla 20). En este sentido encontramos algunas diferencias con otros estudios similares. No hemos encontrado ningún estudio que analizara la asociación de la insuficiencia respiratoria y el riesgo de colonización por EPC. Por otro lado, llama la atención que, a diferencia de otros autores, en nuestro caso, sí que encontramos diferencias significativas en la presencia de insuficiencia renal asociada a hemodiálisis como factor de riesgo para la colonización de EPC (tabla 20). Otras series que han estudiado la mortalidad en pacientes colonizados o infectados por EPC sí que han encontrado asociación entre la insuficiencia renal y el riesgo de infección y/o mortalidad por EPC(52).

Tabla 20. Comparación de factores de riesgo de la población a estudio y registros similares

	Dautzenberg et al. (47) (p)	Dickstein et al (50) (p)	Salgado et al. (p)
<b>Diabetes Mellitus</b>	-	0,669	0,540
<b>Tumores de órgano sólido o neoplasia</b>	0,134	0,404	0,173
<b>EPOC</b>	-	0,048	0,819
<b>Insuficiencia respiratoria al ingreso</b>	-	-	0,014
<b>ICC</b>	-	1,000	0,743
<b>Tratamiento con corticoesteroides</b>	-	-	0,059
<b>Insuficiencia renal crónica (diálisis)</b>	0,445	0,545	0,040
<b>Cirrosis</b>	0,722	0,595	0,086

EPOC: enfermedad obstructiva crónica; ICC: insuficiencia cardiaca congestiva

Los principales factores de riesgo asociados con la colonización con EPC fue la administración previa de cefalosporinas de amplio espectro y betalactámicos/inhibidores de la betalactamasa, así como los procedimientos invasivos previos como la cirugía abdominal y la endoscopia digestiva/biliar. Varios estudios recientes sobre EPC, principalmente realizados sobre *K. pneumoniae*, mostraron que la estancia en la UCI, el mal estado funcional y la procedencia de residencia de ancianos eran predictores de la colonización asintomática por *K. pneumoniae* resistentes a la carbapenems. (53) (54) (55). Los resultados de nuestro análisis bivariado estuvieron de acuerdo en que la estancia de UCI previa y los valores medios mayores de las escalas de gravedad se asociaban a colonización por



EPC. Por otra parte, el porcentaje de pacientes que vivían en una residencia de ancianos fue sorprendentemente bajo y, por lo tanto, no se pueden extraer conclusiones de este dato.

Otros factores descritos en la literatura son la exposición a procedimientos invasivos y antimicrobianos (54). Entre todos los factores identificados en el análisis bivariado de nuestro estudio, fueron estos factores los que permanecieron estadísticamente significativos asociados con la colonización EPC cuando se realizó el análisis multivariado. En relación a esto, la asociación entre la endoscopia biliar y la colonización por bacterias multirresistentes ya había sido descrita previamente (56). Una vez colonizados, los procedimientos invasivos también se han descrito como factores de riesgo de infección por EPC (55).

Se pudo mostrar una fuerte correlación entre la colonización por EPC y la producción de BLEE. Esta fuerte correlación coincide con los resultados de un estudio prospectivo realizado en nuestro país donde se describen altas tasas de coproducción de *Klebsiella pneumoniae* (57)

## 5.7. EFECTOS DEL TRATAMIENTO EMPÍRICO INADECUADO

En relación con la exposición a los antibióticos, los genes que codifican carbapenemasas se encuentran comúnmente en elementos genéticos móviles, lo que permite a los organismos adquirir genes que confieren resistencia a otras clases antibióticas, tales como las  $\beta$ -lactamasas, enzimas modificadoras de aminoglucósidos y determinantes de la resistencia a la fluoroquinolona. Debido a esto, las EPC son cada vez más resistentes a los antimicrobianos disponibles; lo que

permite la coselección de la resistencia por exposición a otros grupos antimicrobianos. En el presente estudio, la exposición a los antibióticos en los seis meses anteriores fue significativamente más común entre los pacientes colonizados. La exposición previa a los antibióticos (53) (55) y el uso específico de carbapenémicos (descrito como factores de riesgo también para la infección) y cefalosporinas (58) han sido descritos como factores de riesgo para la colonización de *Klebsiella pneumoniae*. Algunos estudios señalan que el efecto de los antibióticos sobre la colonización puede ser debido a la duración del tratamiento (59) (58).

Como ya señalé anteriormente las cepas productoras de OXA-48 hidrolizan las penicilinas y los carbapenémicos, pero no las cefalosporinas de tercera generación (60). Sin embargo, en el presente estudio, donde la mayoría de los pacientes fueron colonizados por *Klebsiella spp* productora de OXA-48, sólo la administración previa de cefalosporinas de 3<sup>o</sup> y 4<sup>o</sup> generación y/o inhibidores de la betaláctamasas (este último con menor OR) se asociaron con colonización en el análisis multivariante. La mayoría de las cepas aisladas de *K. pneumoniae* productoras de OXA-48 eran coproductoras CTX-M-15 (61). La coselección de ambas enzimas aumentaba por la exposición previa a cefalosporinas de 3<sup>a</sup> a 4<sup>a</sup> generación. De acuerdo con los datos del presente estudio, esta coselección parecía ser fenotípica y no clonal, ya que había un patrón policlonal (con un clon predominante, pero con dos clones diferentes que representaban aproximadamente el 40% de los casos) en los 22 aislamientos que pudieron ser secuenciados.

El presente estudio, al igual que los mencionados, ponen de manifiesto la necesidad imperiosa de establecer esquemas óptimos de tratamiento, así como de ajustar una duración apropiada del tratamiento antibiótico.

## 5.8. NECESIDAD DE MEDIDAS DE PREVENCIÓN.

Las EPC representan una amenaza, causando enfermedades de difícil tratamiento y con alto potencial de propagación. En otros estudios las infecciones causadas por patógenos multirresistentes se han asociados a peores resultados, así como mayor morbimortalidad. Este resultado puede ser la suma multifactorial de pacientes con mayor gravedad de la enfermedad subyacente, así como tratamientos antibióticos ineficaces (62, 63). Es en este momento, cuando la vigilancia activa de la colonización rectal por EPC adquiere una gran importancia. Por un lado, nos permite establecer medidas precoces y eficaces con el fin de evitar una propagación y por otro lado limitar la posible evolución a infección de cada paciente. En el presente estudio hasta un 39% de los pacientes desarrollaron infección por EPC aisladas en los hisopos rectales, siendo algo superior a los datos encontrados en otras series que oscilan entre el 10-30% (64). La evolución o no a infección vendrá determinado probablemente por la comorbilidad del paciente y la capacidad de invasión de la EPC.

Sin embargo, en la práctica, la instauración de un sistema de cribado universal activo no está disponible en todos los hospitales. El problema actual es que no todos los laboratorios están equipados para una detección precoz de EPC, mientras tanto los pacientes colonizados asintomáticos se han convertido en una fuente importante de propagación. La dificultad de detección, así como el complejo tratamiento aumentan el riesgo de duplicación.

Analizando la situación individual epidemiológica de cada centro sanitario, así como su área sanitaria podría condicionar la relación coste-beneficio y su utilidad. No obstante, una alternativa eficiente en centros de baja prevalencia, podría considerarse, como es el cribado selectivo al ingreso de los pacientes con determinados factores de riesgo para estar colonizados por EPC (63). A la luz de los datos presentados y comparados con la literatura, estos factores de riesgo incluyen, entre otros, los ingresos previos en centros hospitalarios o en unidades de cuidados críticos en los últimos seis meses, proceder de zonas geográficas de alta prevalencia, el consumo de antibióticos en los últimos seis meses, padecer patologías susceptibles de colonización o la realización de procedimientos endoscópicos o biliarios. No obstante, tras la detección del primer caso o único caso en una unidad de cuidados críticos, según el protocolo de 2013 de la Comunidad de Madrid, se recomienda realizar estudios de detección a todos los pacientes ingresados en ese momento durante las cuatro semanas siguientes (65).

Al margen de los sistemas de detección precoz, basta decir, la necesidad imperiosa de implantar protocolos por escrito y accesibles para todo el personal sanitario, que sean revisados y actualizados periódicamente. Se deberá disminuir al mínimo el impacto de las terapias inadecuadas de antibióticos, estimular la formación y actualización continuada, y reevaluar diariamente el tratamiento antibiótico, así como su duración. Estudios recientes han demostrado la utilidad de los marcadores biológicos en la evaluación de la respuesta al tratamiento antimicrobiano. En un estudio multicéntrico reciente que incluyó 121 pacientes utilizando la concentración de procalcitonina (PCT) como guía para finalizar el tratamiento antibiótico, se demostró que el tratamiento antibiótico puede ser

retirado al quinto día con seguridad, incluso en los pacientes graves, siempre y cuando el foco esté controlado, mostrando una reducción del 50% en la duración del tratamiento (66).

Los datos recientes de la relación de EPC y procedimientos digestivos obliga a establecer protocolos de limpieza exhaustiva de dicho material, facilitar protocolos en el lugar de limpieza habitual y llevar controles de calidad estrictos (54) (56).

Por supuesto, la descontaminación de manos constituye el pilar fundamental para el control de la transmisión de las infecciones nosocomiales y que, a pesar de la insistencia de las organizaciones mundiales y nacionales, no existe un estricto cumplimiento. Es necesario que los centros sanitarios establezcan cursos de formación continuada, periódica y obligada sobre el lavado de manos, haciendo especial hincapié en las nuevas incorporaciones, estudiantes y residentes, que se facilite clorhexidina por gran número de puntos de distribución, así como facilitar puntos de esterilización y distribución de la ropa de trabajo.

## 5.9. LIMITACIONES

A pesar del método de detección utilizado en el presente estudio, se detectó carbapenemasa independientemente de la CMI del carbapenem de las EPC aisladas. La EPC aislada con más frecuencia fue *klebsiella pneumoniae* OXA-48; la limitación principal del estudio fue la dificultad que presenta esta clase de enzima en su identificación debido a la inhibición de OXA-48 por la concentración de cefotaxima utilizada. Sin embargo, en un estudio previo en nuestro hospital, incluyendo todos

los aislados de enterobacterias productoras de OXA-48 de diciembre de 2010 a agosto de 2013, sólo el 8% de los aislados productores OXA-48 (24 de los 300 pacientes con cepas OXA-48) eran susceptibles a la cefotaxima. No podemos descartar la posibilidad de no haber detectado cepas susceptibles a la cefotaxima OXA-48 entre los no colonizados. No obstante, el valor del mismo en el grupo de 213 pacientes no colonizados no sería significativo frente a los datos publicados sobre la susceptibilidad en nuestro hospital.

Nuestro estudio se llevó a cabo en un gran centro médico de atención terciaria y los resultados pueden no ser generalizables a otra institución.

## CONCLUSIONES

## 6. CONCLUSIONES

1. La administración de cefalosporinas y betalactámicos/ inhibidores de la betalactamasa, los procedimientos endoscópicos y la cirugía abdominal, se asocian como factores de riesgo para la colonización por enterobacterias productoras de carbapenemasas.
2. Más de un tercio de los pacientes colonizados por enterobacterias productoras de carbapenemasas evolucionaron hacia infección por la misma cepa productora de carbapenemasas.
3. Se encontró una fuerte asociación entre colonización por enterobacterias productoras de carbapenemasas tipo OXA-48 y betalactamasas de espectro extendido, especialmente en *Klebsiella pneumoniae*. La coselección de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas tipo OXA-48 y betalactamasas de espectro extendido está asociada a la exposición previa a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación como factor de riesgo.



## BIBLIOGRAFÍA

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Laxminarayan R, Heymann DL. Challenges of drug resistance in the developing world. *BMJ*. 2012;344:e1567.
2. D'Costa VM, McGrann KM, Hughes DW, Wright GD. Sampling the antibiotic resistome. *Science*. 2006;311(5759):374-7.
3. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010;74(3):417-33.
4. Massova I, Mobashery S. Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42(1):1-17.
5. Nicolau DP. Carbapenems: a potent class of antibiotics. *Expert Opin Pharmacother*. 2008;9(1):23-37.
6. Chow JW, Shlaes DM. Imipenem resistance associated with the loss of a 40 kDa outer membrane protein in *Enterobacter aerogenes*. *J Antimicrob Chemother*. 1991;28(4):499-504.
7. Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;41(3):563-9.
8. Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol*. 2007;2(5):501-12.

9. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Enterobacteriaceae. En: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología médica 7 Edición. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2013, p.258-272.
10. Iredell J, Brown J, Tagg K. Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. *BMJ*. 2016;352:h6420.
11. Frere JM, Galleni M, Bush K, Dideberg O. Is it necessary to change the classification of  $\beta$ -lactamases? *J Gen Microbiol*. 2005;55(6):1051-3.
12. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med*. 2012;18(5):263-72.
13. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(10):1791-8.
14. Nordmann P, Mariotte S, Naas T, Labia R, Nicolas MH. Biochemical properties of a carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase from *Enterobacter cloacae* and cloning of the gene into *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993;37(5):939-46.
15. Aubron C, Poirel L, Ash RJ, Nordmann P. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, U.S. rivers. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(2):260-4.
16. Vourli S, Giakkoupi P, Miriagou V, Tzelepi E, Vatopoulos AC, Tzouvelekis LS. Novel GES/IBC extended-spectrum beta-lactamase variants with carbapenemase activity in clinical enterobacteria. *FEMS Microbiol Lett*. 2004;234(2):209-13.
17. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(3):440-58.

18. Borer A, Saidel-Odes L, Riesenberk K, Eskira S, Peled N, Nativ R, et al. Attributable mortality rate for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009;30(10):972-6.
19. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, et al. Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43(7):1584-90.
20. Docquier JD, Lamotte-Brasseur J, Galleni M, Amicosante G, Frere JM, Rossolini GM. On functional and structural heterogeneity of VIM-type metallo-beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2003;51(2):257-66.
21. Nordmann P, Poirel L, Toleman MA, Walsh TR. Does broad-spectrum beta-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria?. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(4):689-92.
22. Coque TM, Novais A, Carattoli A, Poirel L, Pitout J, Peixe L, et al. Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(2):195-200.
23. Walsh TR, Weeks J, Livermore DM, Toleman MA. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis*. 2011;11(5):355-62.

24. Kaase M, Nordmann P, Wichelhaus TA, Gatermann SG, Bonnin RA, Poirel L. NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(6):1260-2.
25. Jeon JH, Lee JH, Lee JJ, Park KS, Karim AM, Lee CR, et al. Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int J Mol Sci.* 2015;16(5):9654-92.
26. Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(1):15-22.
27. Potron A, Kalpoe J, Poirel L, Nordmann P. European dissemination of a single OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* clone. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(12):E24-6.
28. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States. Department of Health and Human Services. 2013;Atlanta, GA.
29. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) Stockholm: ECDC. 2014.
30. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network.(EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2015.
31. Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med.* 2012;27(2):128-42.

32. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL. European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae working g. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill.* 2015;20(45).
33. Roberts RR, Scott RD, 2nd, Hota B, Kampe LM, Abbasi F, Schabowski S, et al. Costs attributable to healthcare-acquired infection in hospitalized adults and a comparison of economic methods. *Med Care.* 2010;48(11):1026-35.
34. Asencio MaAn, Huertas Ma, Carranza R, Franco Ma, Castellanos Js, Barberá JRn, et al. Tendencia de sensibilidad de los patógenos bacterianos más frecuentemente aislados en el Hospital General La Mancha Centro durante el periodo 2010-2012. *Rev Esp Quimioter.* 2014;27(4):261-8.
35. Oxford J, Kozlov R. Antibiotic resistance--a call to arms for primary healthcare providers. *Int J Clin Pract Suppl.* 2013(180):1-3.
36. Hyle EP, Ferraro MJ, Silver M, Lee H, Hooper DC. Ertapenem-resistant Enterobacteriaceae: risk factors for acquisition and outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010;31(12):1242-9.
37. Fridkin SK, Hill HA, Volkova NV, Edwards JR, Lawton RM, Gaynes RP, et al. Temporal changes in prevalence of antimicrobial resistance in 23 US hospitals. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(7):697-701.
38. Papadimitriou-Olivgeris M, Marangos M, Fligou F, Christofidou M, Bartzavali C, Anastassiou ED, et al. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* enteric colonization upon ICU admission. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(12):2976-81.

39. Lee GC, Lawson KA, Burgess DS. Clinical epidemiology of carbapenem-resistant enterobacteriaceae in community hospitals: a case-case-control study. *The Ann Pharmacother.* 2013;47(9):1115-21.
40. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13(10):818-29.
41. Bohnen JM, Mustard RA, Oxholm SE, Schouten BD. APACHE II score and abdominal sepsis. A prospective study. *Arch Surg.* 1988;123(2):225-9.
42. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA.* 1993;270(24):2957-63.
43. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996;22(7):707-10.
44. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Consultado en octubre de 2015 [Disponible en: [http://www.eucast.org/.](http://www.eucast.org/)]
45. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Document CLSI M100-S25. Consultado en octubre de 2015 [Disponible en: [http://clsi.org/.](http://clsi.org/)]
46. Institut Pasteur. Consultado octubre de 2015. [Disponible en: <http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Kpneumoniae.html>.]

47. Dautzenberg MJ, Wekesa AN, Gniadkowski M, Antoniadou A, Giamarellou H, Petrikkos GL, et al. The association between colonization with carbapenemase-producing enterobacteriaceae and overall ICU mortality: an observational cohort study. *Crit Care Med.* 2015;43(6):1170-7.
48. Mouloudi E, Protonotariou E, Zagorianou A, Iosifidis E, Karapanagiotou A, Giasnetsova T, et al. Bloodstream infections caused by metallo-beta-lactamase/Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae among intensive care unit patients in Greece: risk factors for infection and impact of type of resistance on outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010;31(12):1250-6.
49. Sbrana F, Malacarne P, Viaggi B, Costanzo S, Leonetti P, Leonildi A, et al. Carbapenem-sparing antibiotic regimens for infections caused by Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae in intensive care unit. *Clin Infect Dis.* 2013;56(5):697-700.
50. Dickstein Y, Edelman R, Dror T, Hussein K, Bar-Lavie Y, Paul M. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization and infection in critically ill patients: a retrospective matched cohort comparison with non-carriers. *J Hosp Infect.* 2016;94(1):54-9.
51. Madueno A, Gonzalez Garcia J, Fernandez-Romero S, Oteo J, Lecuona M. Dissemination and clinical implications of multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae isolates producing OXA-48 in a Spanish hospital. *J Hosp Infect.* 2017;96(2):116-22.
52. de Maio Carrilho CM, de Oliveira LM, Gaudereto J, Perozin JS, Urbano MR, Camargo CH, et al. A prospective study of treatment of carbapenem-resistant



Enterobacteriaceae infections and risk factors associated with outcome. *BMC Infect Dis.* 2016;16(1):629.

53. Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(3):1028-33.

54. Saidel-Odes L, Borer A. Limiting and controlling carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Drug Resist.* 2013;7:9-14.

55. Borer A, Saidel-Odes L, Eskira S, Nativ R, Riesenber K, Livshiz-Riven I, et al. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K pneumoniae*. *Am J Infect Control.* 2012;40(5):421-5.

56. Maseda E, Maggi G, Gomez-Gil R, Ruiz G, Madero R, Garcia-Perea A, et al. Prevalence of and risk factors for biliary carriage of bacteria showing worrisome and unexpected resistance traits. *J Clin Microbiol.* 2013;51(2):518-21.

57. Oteo J, Ortega A, Bartolome R, Bou G, Conejo C, Fernandez-Martinez M, et al. Prospective multicenter study of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from 83 hospitals in Spain reveals high in vitro susceptibility to colistin and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(6):3406-12.


58. Kwak YG, Choi SH, Choo EJ, Chung JW, Jeong JY, Kim NJ, et al. Risk factors for the acquisition of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* among hospitalized patients. *Microb Drug Resist.* 2005;11(2):165-9.

59. Swaminathan M, Sharma S, Poliansky Blash S, Patel G, Banach DB, Phillips M, et al. Prevalence and risk factors for acquisition of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the setting of endemicity. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34(8):809-17.
60. Evans BA, Amyes SG. OXA beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(2):241-63.
61. Pitart C, Sole M, Roca I, Fabrega A, Vila J, Marco F. First outbreak of a plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing OXA-48 beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(9):4398-401.
62. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;29(12):1099-106.
63. Oteo J. Should screening programs for carbapenemase-producing strains be implemented in ICU patients? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017;35(6):331-2.
64. Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(4):682-707.
65. Comunidad Autónoma de Madrid. Plan de prevención y control frente a la infección de las bacterias productoras de carbapenemasas [consultado Agosto 2017]. Disponible en:  
  
[[http://www.madrid.org/cs/Satellite?cid=1354274526068&language=es&pagenam e=PortalSalud%2FPPage%2FP TSA\\_pintarContenidoFinal&vest=1354274526068](http://www.madrid.org/cs/Satellite?cid=1354274526068&language=es&pagenam e=PortalSalud%2FPPage%2FP TSA_pintarContenidoFinal&vest=1354274526068)]


66. Maseda E, Suarez-de-la-Rica A, Anillo V, Tamayo E, Garcia-Bernedo CA, Ramasco F, et al. Procalcitonin-guided therapy may reduce length of antibiotic treatment in intensive care unit patients with secondary peritonitis: A multicenter retrospective study. *J Crit Care.* 2015;30(3):537-42.

ANEXO

## ANEXO I. APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ETICA DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA



**Hospital Universitario La Paz**  
Hospital de Carabanchel  
Hospital Carlos III  
Comunidad de Madrid



**CONFORMIDAD DE LA DIRECCIÓN DEL CENTRO**

Doña Ana Frank García, Subdirectora Médico del Hospital Universitario La Paz y vista la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz


**CERTIFICA**

QUE CONOCE la propuesta para que se realice en este Centro el estudio EPA-OD titulado 'ESTUDIO PARA DETERMINAR LOS FACTORES DE RIESGO QUE CONDICIONAN LA COLONIZACIÓN INTESTINAL POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS EN LOS PACIENTES QUE INGRESAN EN UNA UNIDAD DE REANIMACIÓN POSTQUIRÚRGICA', código H.U.L.P. PI-1748

por el investigador Emilio Maseda Garrido del Servicio de Anestesia y Reanimación del Hospital General del Hospital Universitario "La Paz", como investigador principal.

QUE ACEPTA la realización de dicho estudio en el Hospital Universitario La Paz.

Lo que firmo en Madrid a 23 de Junio de 2014



Firmado:  
Dra. Ana Frank García

## ANEXO II. PUBLICACIONES A LOS QUE HA DADO LUGAR EL PRESENTE TRABAJO

Enferm Infecc Microbiol Clin. 2017;35(6):333–337

Factor de impacto: 1,714



ELSEVIER

# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

## Risk factors for colonization by carbapenemase-producing enterobacteria at admission to a Surgical ICU: A retrospective study



Emilio Maseda<sup>a,\*</sup>, Patricia Salgado<sup>a</sup>, Víctor Anillo<sup>a</sup>, Guillermo Ruiz-Carrascoso<sup>b</sup>, Rosa Gómez-Gil<sup>b</sup>, Carmen Martín-Funke<sup>c</sup>, María-Jose Gimenez<sup>d</sup>, Juan-José Granizo<sup>e</sup>, Lorenzo Aguilar<sup>d</sup>, Fernando Gilsanz<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Anesthesiology and Surgical Critical Care Dpt., Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain

<sup>b</sup> Microbiology Dpt., Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain

<sup>c</sup> General Medicine Dpt., Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

<sup>d</sup> PRISM-AG, Madrid, Spain

<sup>e</sup> Preventive Medicine Dpt., Hospital Infanta Cristina, Madrid, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 4 November 2015

Accepted 21 February 2016

Available online 22 March 2016

#### Keywords:

Surgical ICU

*Klebsiella pneumoniae*

OXA-48

Carbapenemases

ESBL

Carriage

### ABSTRACT

**Introduction:** In 2011, a hospital-wide outbreak of OXA-48 producing *Klebsiella pneumoniae* occurred in our hospital, an epidemiological setting of high ESBL-producing *K. pneumoniae* rates. This study identifies risk factors for colonization with carbapenemase-producing enterobacteria (CPE) at Surgical Intensive Care Unit (SICU) admission.

**Methods:** A 2-year retrospective study was performed in all patients admitted to the SICU that following routine had a rectal swab collected upon admission.

**Results:** Of 254 patients admitted, 41 (16.1%) harbored CPE (five showing two carbapenemase-producing isolates). Most frequent carbapenemase-producing isolates and carbapenemases were *K. pneumoniae* (39/46, 84.8%) and OXA-48 (31/46; 76.1%), respectively. Carriers significantly had higher rates of chronic renal disease, previous digestive/biliary endoscopy, hospitalization, ICU/SICU admission, intraabdominal surgery, and antibiotic intake, as well as higher median values of clinical scores (SOFA, SAPS II and APACHE II). In the multivariate analysis ( $R^2 = 0.309$ ,  $p < 0.001$ ), CPE carriage was associated with prior administration of 3rd–4th generation cephalosporins (OR = 27.96, 95%CI = 6.88, 113.58,  $p < 0.001$ ),  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor (OR = 11.71, 95%CI = 4.51, 30.43,  $p < 0.001$ ), abdominal surgery (OR = 6.33, 95%CI = 2.12, 18.89,  $p = 0.001$ ), and prior digestive/biliary endoscopy (OR = 3.88, 95%CI = 1.56, 9.67,  $p = 0.004$ ).

**Conclusions:** A strong association between production of ESBLs and carriage of CPE (mainly OXA-48 producing *K. pneumoniae*) was found. According to the model, the co-selection of  $\beta$ -lactamases by previous exposure to broad-spectrum cephalosporins and  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitors (with lower relative risk), abdominal surgery and prior digestive/biliary endoscopy were factors associated with CPE carriage.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

### Factores de riesgo para la colonización por enterobacterias productoras de carbapenemasas en el momento de admisión en una UCI quirúrgica: estudio retrospectivo

#### R E S U M E N

**Introducción:** En 2011 se produjo un brote epidémico de *Klebsiella pneumoniae* productor de OXA-48 en nuestro hospital, un entorno epidemiológico de altas tasas de *K. pneumoniae* productor de BLEE. Este estudio identifica factores de riesgo de colonización por enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) en el momento del ingreso en la unidad de cuidados críticos quirúrgicos (UCCQ).

#### Palabras clave:

Unidad de Cuidados Críticos Quirúrgicos

*Klebsiella pneumoniae*

OXA-48

\* Corresponding author.

E-mail address: emilio.maseda@gmail.com (E. Maseda).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016.02.017>

0213-005X/© 2016 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.



Carbapenemasas  
BLEE  
Portadores

**Métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo durante 2 años en todos los pacientes ingresados en la UCCQ a los que, siguiendo la rutina habitual, se les tomaba un hisopo rectal en el momento de ingreso.

**Resultados:** De los 254 pacientes ingresados, 41 (16,1%) portaban EPC (5 con 2 aislados productores de carbapenemasas). Los aislados productores de carbapenemasas y las carbapenemasas más frecuentes fueron *K. pneumoniae* (39/46, 84,8%) y OXA-48 (31/46; 76,1%), respectivamente. Los portadores presentaban de forma significativa mayor frecuencia de insuficiencia renal crónica, historia previa de endoscopia digestiva/biliar, hospitalización, ingreso previo en UCI/UCCQ, cirugía intraabdominal y exposición a antibióticos, así como valores más altos (mediana) de SOFA, SAPS II y APACHE II. En el análisis multivariado ( $R^2 = 0,309$ ;  $p < 0,001$ ), el estado de portador de EPC se asoció con la administración previa de cefalosporinas de amplio espectro (OR = 27,96; IC 95%: 6,88–113,58;  $p < 0,001$ ),  $\beta$ -lactámicos/inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (OR = 11,71; IC 95%: 4,51–30,43;  $p < 0,001$ ), cirugía abdominal (OR = 6,33; IC 95%: 2,12–18,89;  $p = 0,001$ ) y endoscopia digestiva/biliar previa (OR = 3,88; IC 95%: 1,56–9,67;  $p = 0,004$ ).

**Conclusiones:** Se encontró una fuerte asociación entre la producción de BLEE y la portación de EPC (fundamentalmente *K. pneumoniae* productora de OXA-48). De acuerdo con el modelo, la co-selección de  $\beta$ -lactamasas tras exposición previa a cefalosporinas de amplio espectro y en menor medida a  $\beta$ -lactámicos/inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, la cirugía abdominal y la endoscopia digestiva/biliar previa fueron factores asociados a la portación de EPC.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

## Introduction

In recent years, Enterobacteriaceae have increased their potential for pan-resistance by acquiring resistance to carbapenems through mutations in penicillin binding proteins (uncommon in gram-negatives), reduced permeability in combination with  $\beta$ -lactamasas as extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBLs), upregulation of efflux systems along with hyperproduction of AmpC  $\beta$ -lactamasas, and/or mainly through production of carbapenemases. *Klebsiella pneumoniae* has the potential to become extensively drug resistant through production of carbapenemases<sup>1</sup> as KPC (class A), VIM (class B) and OXA (class D). OXA-48 is by far the most common carbapenemase type circulating in Spain, and is mainly produced by *K. pneumoniae*<sup>1</sup>. This enzyme hydrolyses penicillins and carbapenems (although conferring low level resistance to carbapenems),<sup>2</sup> and has very weak activity against expanded-spectrum cephalosporins.<sup>3</sup> Clonally related OXA-48 producing strains usually co-produce CTX-M-15  $\beta$ -lactamase<sup>2,4,5</sup> and harbor resistance traits to quinolones and aminoglycosides.<sup>2,6</sup>

Hospital readmission, stay in the Intensive Care Unit (ICU), invasive procedures and prior exposure to broad-spectrum antibiotics (carbapenems, cephalosporins, quinolones) have been identified as risk factors for colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CPE).<sup>7–9</sup> Risk factors for enteric colonization by KPC-producing *K. pneumoniae* upon ICU admission were prospectively determined in a published study showing association of colonization with prior ICU stay, chronic obstructive pulmonary disease as underlying condition, and previous use of carbapenems and  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitors.<sup>10</sup> Once colonized, long-term carriage of KPC-producing *K. pneumoniae* has been reported, with multiple hospitalizations and carbapenem-resistant *K. pneumoniae* infections extending the duration of carriage.<sup>11</sup> Subsequent development of infection by carbapenem-resistant *K. pneumoniae* among colonized patients reached 46% for ICU patients in a previous study,<sup>12</sup> with invasive procedures, antipseudomonal penicillins or carbapenem therapy and mechanical ventilation, common factors in patients admitted to ICUs, as risk factors for infection.<sup>7</sup>

Knowledge of colonization with CPE is important to prevent nosocomial spread and to empirically initiate appropriate therapy in case of infection. Nevertheless, studies exploring risk factors for colonization with CPE did not include a large enough number of OXA-48 producing bacteria, probably due to the recent abrupt emergence of this carbapenemase. In 2011, a hospital-wide outbreak of OXA-48 producing *K. pneumoniae* occurred in our hospital,

an epidemiological setting of high rates of ESBL-producing *K. pneumoniae* and sustained low level of VIM-producing bacteria.<sup>2</sup> In this context, the aim of the present study was to identify risk factors for colonization with CPE upon Surgical ICU (SICU) admission in our hospital in the two-year period after the reported outbreak.

## Methods

A retrospective, observational study was carried out from January 2012 to December 2013 analyzing data from all patients >14 years of age admitted to the SICU of Hospital Universitario La Paz (Madrid, Spain), a general reference hospital with  $\approx 1300$  beds and  $\approx 50,000$  admissions/year, and a SICU of 15 beds with a median occupancy rate of 80%–90%. All patients admitted to the SICU have a rectal swab collected at entry in the Unit as part of the management routine. The study protocol was approved by the Ethical Review Board of Hospital La Paz.

Clinical records were reviewed to obtain demographic (age, gender, nursing home residency . . .) and clinical (underlying conditions) data, and the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA),<sup>13</sup> the Simplified Acute Physiology Score (SAPS II),<sup>14</sup> and the Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation (APACHE) II<sup>15</sup> scores were calculated with data at SICU admission. Antibiotic intake for >3 days in the previous six months, hospitalizations in the last 12 months, intraabdominal and/or urgent surgery in the previous 30 days, and ward and number of days of hospitalization prior to SICU admission were recorded. Microbiological data from rectal swabs collected within the first 24 h of SICU admission following our screening routine to all patients entering the SICU were recorded. Carriers were defined as patients without signs/symptoms of infection that had CPE isolated from the rectal swab collected at SICU entry, and non-carriers as patients without signs/symptoms of infection and no CPE isolation.

## Microbiological methods

Rectal swabs collected were immediately sent to the Microbiology department for culture on McConkey agar plates containing 4 mg/L of cefotaxime. Identification was performed using matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight (MALDI-TOF; Bruker Daltonics, Inc., Billerica, MA) system. ESBLs and carbapenemases were phenotypically confirmed with the double-disk synergy method with cefotaxime, ceftazidime,



**Table 1**  
Species, carbapenemases and ESBLs found in the 41 carbapenemase carriers.

No. of patients	OXA-48	VIM-1	KPC	No. patients co-presenting ESBL
28	<i>K. pneumoniae</i>			27
2	<i>E. coli</i>			1
1	<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. coli</i>			1
4		<i>K. pneumoniae</i>		2
1		<i>K. oxytoca</i>		0
1		<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. coli</i>		1
1	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>		0
1	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. pneumoniae</i>		1
1	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>		1
1			<i>K. pneumoniae</i>	1

cefotaxime/clavulanate and ceftazidime/clavulanate and the modified Hodge test using imipenem, meropenem and ertapenem discs. PCRs with specific primers were used for the detection of *bla*KPC, *bla*VIM, *bla*IMP, *bla*NDM and *bla*OXA-48 genes<sup>16–18</sup> and other  $\beta$ -lactamase genes (TEM, SHV, CTX-M, and OXA-1).<sup>19</sup>

The genetic relationships between the OXA-48-producing *K. pneumoniae* isolates were determined by MLST according to the Institute Pasteur Scheme.<sup>20</sup> Clone-specific real time PCR for *K. pneumoniae* ST11 and ST405 was also used for rapid typing.<sup>21</sup>

#### Statistical analysis

Comparison of proportions was performed by chi-square test and Fisher's exact test when necessary. For quantitative variables, since data did not show normality in the Kolmogorov–Smirnov test, the Kruskal–Wallis and Mann–Whitney tests were used when necessary. Bivariate analyses were performed to compare all variables between carriers and non-carriers. Logistic regression models (stepwise procedure) were performed using “carriage of CPE” as dependent variable and those showing differences ( $p < 0.05$ ) in bivariate analyses as independent variables. Interactions and linear dependence between independent variables were previously controlled. The statistical analysis was performed using SPSS, version 4 (SPSS Inc., Chicago, IL). The model showing the maximum parsimony (the lowest number of variables with no significant reduction in the value of the determination coefficient) and the highest  $R^2$  was considered.

#### Results

A total of 254 patients (65.5  $\pm$  15.5 years; 63.4% males) were admitted to the SICU during the study period, 41 (16.1%) of them harboring CPE (five showing co-existence of two carbapenemase-producing isolates) and 45 (17.7%) ESBL-producing isolates. A strong association between carriage of ESBL and CPE was found ( $\chi^2 = 153.49$ ,  $p < 0.0001$ ); the percentage of patients harboring ESBL-producing bacteria being significantly higher among carbapenemase carriers (85.4% vs. 4.7%,  $p < 0.001$ ).

A total of 46 carbapenemase-producing isolates were found, most of them were *K. pneumoniae* (39 out of 46; 84.8%). OXA-48 was the most frequent carbapenemase (31 out of 46; 76.1%). Twenty-two out of these 31 (71.0%) OXA-48 *K. pneumoniae* could be genome sequenced. Of them, 13 (59.1%) were ST11, 7 (31.8%) were ST405, and 2 (9.1%) were ST323. Table 1 details bacterial species and carbapenemases found in carriers. The profile of  $\beta$ -lactamase genes was different in ST11 (TEM-116, SHV-11 and OXA-1) and ST405 (TEM-1, SHV-76, CTX-M-15 and OXA-1) OXA-48-producing *K. pneumoniae*.

Table 2 shows demographic data, comorbidities and severity (clinical scores) of the study patients distributed by CPE carriage (carriers/non-carriers). Only four patients lived in a nursing home,

and only one among carriers. The percentage of patients presenting respiratory insufficiency at SICU admission or chronic renal disease was significantly higher for CPE carriers as occurred with median values of clinical scores (SOFA, SAPS II and APACHE II).

Table 3 shows data on hospitalization in the previous 12 months, surgical events in the preceding month and antibiotic intake the last six months for carriers and non-carriers. Hospitalizations, prior ICU/SICU admission and digestive/biliary endoscopy in the last 12 months, as well as intraabdominal surgery in the previous 30 days were significantly more frequent in carriers. Overall antibiotic intake in the last six months was significantly more common in carriers, with more frequent administration of all antibiotic compounds/classes (except metronidazole) than in non-carriers.

In the multivariate analysis ( $R^2 = 0.309$ ,  $p < 0.001$ ), carriage of CPE was associated with prior administration of 3rd–4th generation cephalosporins (OR = 27.96, 95%CI = 6.88, 113.58,  $p < 0.001$ ),  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor (OR = 11.71, 95%CI = 4.51, 30.43,  $p < 0.001$ ), abdominal surgery (OR = 6.33, 95%CI = 2.12, 18.89,  $p = 0.001$ ), and prior digestive/biliary endoscopy (OR = 3.88, 95%CI = 1.56, 9.67,  $p = 0.004$ ).

Sixteen out of the 41 (39.0%) carriers developed infection, and the same CPE isolate found in the rectal swab at SICU admission was isolated from blood (4 samples), urine (5 samples), bronchoalveolar lavage/tracheal aspiration (6 samples), and intra-abdominal samples (7 samples).

#### Discussion

The present study exploring risk factors for asymptomatic carriage of CPE at SICU admission showed a strong correlation between carriage of ESBLs and carbapenemases. This strong correlation is in accordance with the results of a prospective study in our country describing high rates of coproduction in *K. pneumoniae*.<sup>22</sup> Main factors associated with CPE carriage were prior administration of broad-spectrum cephalosporins and  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor, and prior invasive procedures as abdominal surgery and digestive/biliary endoscopy. Several recent studies on CPE, mainly *K. pneumoniae*, showed that ICU stay, poor functional status and nursing home residency were predictors of asymptomatic colonization by carbapenemase-resistant *K. pneumoniae*.<sup>7,23,24</sup> The results of our bivariate analysis were in accordance with this since ICU stay was significantly more frequent and mean values of clinical scores were significantly higher among carriers. The percentage of patients living in a nursing home was surprisingly low and thus, no conclusions can be drawn. Other factors described in the literature are exposure to invasive procedures and/or to antimicrobials.<sup>7,25</sup> These, among all factors identified in our bivariate analysis, were the type of factors that remained significantly associated with CPE carriage in the multivariate analysis performed. In relation to this, the association between biliary endoscopy and biliary carriage of resistant bacteria had been previously described by our group.<sup>26</sup>



**Table 2**

Demographic data, comorbidities and severity (clinical scores); data expressed as n (%) except where indicated.

	Total (n = 254)	Carriers (n = 41)	Non-carriers (n = 213)	p
Age, mean ± SD	65.5 ± 15.5	66.9 ± 17.5	65.2 ± 15.1	0.519
Males	161 (63.4)	25 (61.0)	136 (63.8)	0.726
Diabetes mellitus	57 (22.4)	11 (26.8)	46 (21.6)	0.462
Malignancies	57 (22.4)	12 (29.3)	45 (21.1)	0.253
COPD	41 (16.1)	7 (17.1)	34 (16.0)	0.859
Respiratory insufficiency at SICU admission	30 (11.9)	10 (24.4)	20 (9.4)	0.007
Congestive heart disease	17 (6.7)	3 (7.3)	14 (6.6)	0.743
Steroids intake	10 (3.9)	4 (9.8)	6 (2.8)	0.059
Chronic renal disease (dialysis)	9 (3.5)	4 (9.8)	5 (2.3)	0.040
Cirrhosis	7 (2.8)	3 (7.3)	4 (1.9)	0.086
SOFA at SICU admission, median (P <sub>25</sub> –P <sub>75</sub> )	3.0 (2.0–6.0)	6.0 (3.0–8.0)	3.0 (1.0–5.0)	<0.001
SAPS II at SICU admission, median (P <sub>25</sub> –P <sub>75</sub> )	30.0 (25.0–42.0)	40.0 (30.5–52.5)	30.0 (25.0–39.5)	0.002
APACHE II at SICU admission, median (P <sub>25</sub> –P <sub>75</sub> )	12.0 (8.0–16.0)	15.0 (11.0–22.5)	11.0 (8.0–15.0)	<0.001

**Table 3**

Hospitalizations, surgical events and antibiotic intake; data expressed as n (%) except where indicated.

	Total (n = 254)	Carriers (n = 41)	Non-carriers (n = 213)	p
<i>Hospitalization (previous 12 months)</i>	102 (40.2)	34 (82.9)	68 (31.9)	<0.001
No. of days in the previous stay, median (P <sub>25</sub> –P <sub>75</sub> )	0.0 (0.0–9.0)	21.5 (12.0–38.0)	0.0 (0.0–3.0)	<0.001
<i>Previous ICU/SICU admission (previous 12 months)</i>	27 (10.6)	14 (34.1)	13 (6.1)	<0.001
No. of days in the previous stay, median (P <sub>25</sub> –P <sub>75</sub> )	4.0 (2.0–9.0)	3.0 (2.0–16.8)	5.0 (2.0–7.5)	0.788
<i>Surgical ward (previous 12 months)</i>	44 (17.5)	21 (51.2)	23 (10.9)	<0.001
<i>Digestive/biliary endoscopy (previous 12 months)</i>	68 (26.8)	24 (58.5)	44 (20.7)	<0.001
<i>Intraabdominal surgery (previous 30 days)</i>	27 (10.7)	16 (39.0)	11 (5.2)	<0.001
<i>Urgent surgery (previous 30 days)</i>	11 (4.3)	5 (12.2)	6 (2.8)	0.019
<i>Antibiotic intake (&gt;3 days; previous six months)</i>	76 (29.9)	39 (95.1)	37 (17.4)	<0.001
<i>Carbapenems</i>	33 (13.0) <sup>a</sup>	18 (43.9)	15 (7.0)	<0.001
<i>β-Lactam + β-lactamase inhibitor</i>	41 (16.1)	24 (58.5)	17 (8.0)	<0.001
<i>Quinolones</i>	29 (11.4)	15 (36.6)	14 (6.6)	<0.001
<i>3rd–4th generation cephalosporins</i>	15 (5.9)	10 (24.4)	5 (2.3)	<0.001
<i>Linezolid</i>	13 (5.1)	6 (14.6)	7 (3.3)	0.009
<i>Tigecycline</i>	7 (2.8)	6 (14.6)	1 (0.5)	<0.001
<i>Aminoglycosides</i>	6 (2.4)	5 (12.2)	1 (0.5)	<0.001
<i>Daptomycin</i>	7 (2.8)	5 (12.2)	2 (0.9)	0.001
<i>Glycopeptides</i>	5 (2.0)	4 (9.8)	1 (0.5)	0.003
<i>Metronidazole</i>	11 (4.3)	3 (7.3)	8 (3.8)	0.392
<i>Others</i>	9 (3.6)	6 (14.6)	3 (1.4)	0.002

<sup>a</sup> 32 patients received meropenem, two ertapenem and one imipenem (two patients received a combination of two carbapenems)

Once colonized, invasive procedures were also identified as risk factor for infection by CPE in published studies.<sup>24,27</sup>

In relation to antibiotic exposure, genes encoding carbapenemases are commonly found in mobile genetic elements, allowing the organism to acquire genes conferring resistance to other antibiotic classes, such as other β-lactamases, aminoglycoside-modifying enzymes and determinants for fluoroquinolone resistance.<sup>28</sup> Due to this, CPE are increasingly multidrug resistant; this allowing co-selection of resistance by exposure to other antimicrobial groups. In the present study, antibiotic exposure in the previous six months was significantly more common among carriers. Previous overall antibiotic exposure<sup>23,24</sup> and specifically use of carbapenems (described as risk factor also for infection)<sup>24</sup> and cephalosporins<sup>29</sup> have been reported as risk factors for carbapenem-resistant *K. pneumoniae* colonization. In addition, exposure to fluoroquinolones has also been identified as an independently predictive factor for carriage.<sup>23</sup>

OXA-48 hydrolyzes penicillins (with or without inhibitor) and carbapenems (low level of resistance), but not 3rd generation cephalosporins.<sup>30</sup> OXA-48 producing isolates have been reported, according to CLSI, as carbapenem-susceptible.<sup>31</sup> However, many OXA-48-producing Enterobacteriaceae coproduce an ESBL, jeopardizing all regular beta-lactam antibiotics.<sup>32</sup> In the present study, where the majority of patients were colonized with OXA-48 producing *Klebsiella* spp., only prior administration of 3rd–4th generation cephalosporins and β-lactam/β-lactamase inhibitor (with

lower OR) were associated with colonization in the multivariate analysis. Most OXA-48 producing *K. pneumoniae* strains co-produce CTX-M-15,<sup>4,5</sup> co-selection of both enzymes may be enhanced by prior exposure to 3rd–4th generation cephalosporins. According to data in the present study, this co-selection seemed to be phenotypic and not clonal-related since there was a polyclonal pattern (with a predominant clone, but with two different clones accounting for approximately 40% cases) among the 22 isolates that could be sequenced.

Despite the screening method used in the present study detected carbapenemases regardless the carbapenem MIC for the isolates, one study limitation could be the reported inappropriateness of the method for CPE in an environment where OXA-48 is the predominant carbapenemase<sup>33</sup> due to the inhibition of OXA-48 isolates by the cefotaxime concentration used. However, in a previous study in our hospital including all OXA-48 isolates from December 2010 to August 2013, only 8% OXA-48 isolates (24 out of 300 patients with OXA-48 isolates) were cefotaxime-susceptible.<sup>34</sup> Therefore, although we cannot dismiss the possibility of not having detected possible cefotaxime-susceptible OXA-48 isolates among non-carriers, the weight of it in the group of 213 non-carriers would not be significant facing published data on susceptibility in our hospital.

Since the first description of OXA-48 in 2009 in Spain,<sup>4</sup> reports of isolates to the Spanish Centre for Microbiology have increased from zero cases in 2010 to 163 cases in 2012.<sup>1</sup> The association of



production of ESBLs and OXA-48, allows selection by antibiotics target of these enzymes as broad-spectrum cephalosporins. This, and the possible association with resistance to other antibiotic groups, is a worrisome problem that should be monitored, more even when resistance to carbapenems can emerge by the acquisition of  $\beta$ -lactamase genes in isolates with permeability alterations (efflux pumps and/or porine deficit).

Monitoring of carriage acquires importance since colonized patients could develop infection by colonizing bacteria. In the present study up to 39% patients developed infection by the CPE isolated from rectal swabs.

This study, to our knowledge the first study exploring risk factors for carriage of CPE at SICU admission, identified a strong association between production of ESBLs and carriage of CPE (mainly OXA-48 producing *K. pneumoniae*). The co-selection of  $\beta$ -lactamases by previous exposure to broad-spectrum cephalosporins and  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitors (with lower relative risk), abdominal surgery and prior digestive/biliary endoscopy were factors associated with CPE carriage. These facts are important in epidemiological settings with high rates of ESBL-producing *K. pneumoniae* as our hospital, and in ICUs that are commonly ESBL endemic environments. The high rate of colonized patients developing infection in the present study warrants further studies to determine risk factors for infection in carriers of this type of CPE.

#### Funding

Data entry and analysis of this study was supported in part by an unrestricted grant from Fundación Biomédica del Hospital Universitario La Paz (Madrid, Spain). The funding body had no decision in design, collection, analysis, interpretation of data, manuscript preparation or decision about journal to be submitted.

#### Conflicts of interest

EM has received payments for lectures from Astellas Pharma, Pfizer and Merck Sharp & Dohme. M-JG and LA are employees of PRISM-AG that has received an investigational grant for data analysis. All other authors declare no conflicts of interest.

#### References

- Oteo J, Saez D, Bautista V, Fernández-Romero S, Hernández-Molina JM, Pérez-Vázquez M, et al. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain in 2012. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:6344–7.
- Paño-Pardo JR, Ruiz-Carrascoso G, Navarro-San Francisco C, Gómez-Gil R, Morarillo M, Romero-Gómez MP, et al. Infections caused by OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary hospital in Spain in the setting of a prolonged, hospital-wide outbreak. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:89–96.
- Poirer L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:15–22.
- Pitart C, Solé M, Roca I, Fàbrega A, Vila J, Marco F. First outbreak of a plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing OXA-48 beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:4398–401.
- Oteo J, Hernández JM, Espasa M, Fleites A, Sáez D, Bautista V, et al. Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:317–21.
- Rodríguez Martínez JM, Díaz-de Alba P, Lopez-Cerero, Ruiz-Carrascoso G, Gomez-Gil R, Pascual A. Presence of quinolone resistance to qnrB1 genes and blaOXA-48 carbapenemase in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32:441–2.
- Saidel-Odes L, Borer A. Limiting and controlling carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Drug Resist.* 2013;7:9–14.
- Oteo J, Calbo E, Rodríguez-Baño J, Oliver A, Hornero A, Ruiz-Garbayosa P, et al. The threat of the carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain: positioning report of the SEIMC study groups, GEIH and GEMARA. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32:666–70 [in Spanish].
- Zhao ZC, Xu XH, Liu MB, Wu J, Lin J, Li B. Fecal carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a Chinese university hospital. *Am J Infect Control.* 2014;42:e61–4.
- Papadimitriou-Olivgeris M, Marangos M, Christofidou M, Fligou F, Bartzavali C, Panteli ES, et al. Risk factors for infection and predictors of mortality among patients with KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit. *Scand J Infect Dis.* 2014;46:642–8.
- Zimmerman FS, Assous MV, Bdoalah-Abram T, Lachish T, Yinnon AM, Wiener-Well Y. Duration of carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae following hospital discharge. *Am J Infect Control.* 2013;41:190–4.
- Calfee D, Jenkins SG. Use of active surveillance cultures to detect asymptomatic colonization with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;29:966–8.
- Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996;22:707–10.
- Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA.* 1993;270:2957–63.
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13:818–29.
- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:440–58.
- Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 2010;10:597–602.
- Hindiyeh M, Smollen G, Grossman Z, Ram D, Davidson Y, Mileguir F, et al. Rapid detection of blaKPC carbapenemase genes by real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2008;46:2879–83.
- Tofteland S, Haldorsen B, Dahl KH, Simonsen GS, Steinbakk M, Walsh TR, et al. Effects of phenotype and genotype on methods for detection of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Norway. *J Clin Microbiol.* 2007;45:199–205.
- <http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Kpneumoniae.html> [accessed 15.10.15].
- López-Camacho E, Rentero Z, Ruiz-Carrascoso G, Wesselink JJ, Pérez-Vázquez M, Lusa-Bernal S, et al. Design of clone-specific probes from genome sequences for rapid PCR-typing of outbreak pathogens. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:0891–3.
- Oteo J, Ortega A, Bartolomé R, Bou G, Conejo C, Fernández-Martínez M, et al. Prospective multicenter study of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from 83 hospitals in Spain reveals high in vitro susceptibility to colistin and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:3406–12.
- Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:1028–33.
- Borer A, Saidel-Odes L, Eskira S, Nativ R, Riesenberk K, Livshitz-Riven I, et al. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. *Am J Infect Control.* 2012;40:421–5.
- Paño Pardo JR, Serrano Villar S, Ramos Ramos JC, Pintado V. Infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: risk factors, clinical features and prognosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32 Suppl. 4:41–8.
- Maseda E, Maggi G, Gomez-Gil R, Ruiz G, Madero R, Garcia-Perea A, et al. Prevalence of and risk factors for biliary carriage of bacteria showing worrisome and unexpected resistance traits. *J Clin Microbiol.* 2013;51:518–21.
- Giannella M, Trecarichi EM, De Rosa FG, Del Bono V, Bassetti M, Lewis RE, et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection among rectal carriers: a prospective observational multicentre study. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:1357–62.
- Perez F. Carbapenem-resistant Van Duin D. Enterobacteriaceae: a menace to our most vulnerable patients. *Cleve Clin J Med.* 2013;80:225–33.
- Kwak YG, Choi SH, Choo EJ, Chung JW, Jeong JY, Kim NJ, et al. Risk factors for the acquisition of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* among hospitalized patients. *Microb Drug Resist.* 2005;11:165–9.
- Evans BA, Amves SG. OXA beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:241–63.
- Nazik H, Ongen B, Ilktac M, Aydin S, Kuvat N, Sahin A, et al. Carbapenem resistance due to bla (OXA-48) among ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in a university hospital, Turkey. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2012;43:1178–85.
- Canton R, Akova M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Cniadkowski M, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:413–31.
- Poirer L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:1597–606.
- Colliga Jiménez C, Casares Peinado C, Lázaro Perona F, López Camacho E, Gómez Sánchez P, Gómez-Gil Mira R, et al. Incidencia y características microbiológicas de enterobacterias productoras de carbapenemasa OXA-48 sensibles a cefalosporinas (XVIII Congreso SEIMC, Abstract no. 68). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(Especial Congreso 1):50.



## Bacteriología

Patricia Salgado  
Fernando Gilsanz  
Emilio Maseda

## Tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas

Servicio de Anestesia y Reanimación, Hospital Universitario La Paz, Madrid.

## RESUMEN

Las enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) se han extendido a nivel mundial constituyendo un problema de salud pública. Sin embargo, no disponemos de ensayos clínicos aleatorizados que justifiquen el tratamiento antibiótico adecuado de las EPC. Los estudios experimentales se han centrado en la búsqueda de combinaciones de antibióticos con actividad sinérgica. El objetivo principal de estos estudios ha sido aumentar la eliminación de los microorganismos implicados y disminuir la aparición de resistencias. Los resultados disponibles sobre EPC recomiendan un tratamiento de combinación. Los carbapenems han sido elegidos como base de la terapia combinada. Nos encontramos frente a limitadas opciones terapéuticas. En este contexto, nos hemos visto obligados a rescatar antibióticos como las polimixinas, la fosfomicina y gentamicina, obteniendo buenos resultados tanto *in vitro* como en modelos murinos de infección.

### Therapeutic options for carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*

## ABSTRACT

Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) has spread worldwide becoming a threat to public health. However, no randomized clinical trials about the efficacy of optimizing antibiotic treatment have been published. Experimental studies have been designed to find combinations of antibiotics with synergistic activity. Their main aim has been increasing the speed of bacterial destruction and decreasing resistance. The latest guidelines recommend combination therapy. The carbapenems has been chosen as the basis of such therapy. We face limited therapeutic options. Polymyxins, fosfomicin and gentamicin have reemerged in this context, becoming the

basis of multiple combination regimens, with beneficial effects both *in vitro* and in murine models of infection.

## INTRODUCCIÓN

El exponencial aumento en los últimos años de los microorganismos multirresistentes se ha convertido en un problema de salud pública. Cuando Kumarasamy et al.<sup>1</sup>, publicaron el primer informe epidemiológico sobre la aparición de enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) tipo Nueva Delhi metalo-β-lactamasa-1, (NDM-1) en la India, Pakistán y el Reino Unido, su impacto probablemente fue subestimado. Las EPC se han diseminado a nivel mundial. En los países desarrollados la menor eficacia de los antibióticos, ha contribuido a un aumento en la presión de selección, forzando la utilización de antimicrobianos más caros y de mayor amplio espectro. Sin embargo, el desafío más grande se encuentra en los países en vías de desarrollo, donde el problema de las enfermedades infecciosas es elevado y los pacientes con infecciones resistentes son incapaces de costearse cualquier antibiótico de segunda línea. La falta de recursos, la higiene, el abastecimiento de agua, los conflictos civiles y un número creciente de personas con inmunodeficiencia por VIH, se han convertido en un caldo de cultivo que facilita la rápida evolución y diseminación de los microorganismos multirresistentes.

No hay ninguna duda de que los antibióticos han revolucionado la medicina en muchos aspectos, pero la mala *praxis*, el uso inadecuado y la administración de dosis subóptimas han ayudado a la aparición de microorganismos multirresistentes. Algunos autores se atreven a definir este periodo como la "era *postantibiótica*".

Nuestro objetivo es realizar una revisión de las opciones del tratamiento antibiótico de las infecciones causadas por EPC en el momento actual.

## ESTUDIOS EXPERIMENTALES

Cuando hablamos de estudios experimentales, nos referimos a estudios realizados *in vitro* y en modelos de infección animal. Numerosos estudios han indicado

Correspondencia:  
Emilio Maseda  
Servicio de Anestesia y Reanimación,  
Hospital Universitario La Paz; Paseo de la Castellana 261; 2846, Madrid.  
Tfno.: +34917277000  
E-mail: emilio.maseda@gmail.com



que colistina, tigeciclina y fosfomicina son los antibióticos más eficaces para las EPC, ya sean tipo KPC o tipo metalo- $\beta$ -lactamasas (MBL). Entre los aminoglucósidos que se usan en la actualidad, tan solo gentamicina mantiene una buena actividad contra las EPC tipo KPC y tipo VIM, aunque no ocurre lo mismo con las del tipo NDM. En cuanto a los  $\beta$ -lactámicos, aunque paradójico, los compuestos más eficaces parecen ser los carbapenems. Ceftazidima, se ha estudiado en EPC tipo OXA-48 no productores de  $\beta$ -lactamasas, mostrando sensibilidad *in vitro* y actividad antibacteriana significativa en modelos animales, siendo incluso más eficaz que imipenem, ertapenem y piperacilina/tazobactam. Por otro lado si nos fijamos donde aparecen bajas tasas de susceptibilidad, nos debemos referir a las quinolonas, nitrofurantoina y cloranfenicol, estos dos últimos usados con menos frecuencia<sup>2,3</sup>.

Los estudios experimentales se han orientado hacia la búsqueda de combinaciones de antibióticos con actividad sinérgica. El objetivo principal es aumentar la velocidad de eliminación y reducir al mínimo la resistencia bacteriana. La mayoría de estos estudios disponibles se han basado en cepas de *Klebsiella pneumoniae* y con menor frecuencia en cepas de *Escherichia coli*. Esta terapia combinada se fundamenta en la elección de un antibiótico como base del tratamiento, asociado a otro antibiótico coadyuvante al que el organismo puede ser susceptible *in vitro* o no. En este contexto, las polimixinas (colistina o polimixina B) se han convertido en la base de los regímenes de combinación, con datos beneficiosos tanto *in vitro* como en modelos murinos de infección. Zusman et al.<sup>4</sup>, publicaron un metaanálisis en el que mostraron que las combinaciones de carbapenems, especialmente doripenem junto con polimixinas, ejercían un efecto sinérgico contra *K. pneumoniae* resistente a los carbapenems, mientras que el antagonismo era raro. Urban et al.<sup>5</sup>, también han sugerido el uso de la triple terapia con polimixina B, doripenem y rifampicina, logrando una alta actividad bactericida.

En cuanto al uso de colistina (o polimixina E), también han sido descritas combinaciones con carbapenems o tigeciclina. Se estudió la interacción entre colistina e imipenem. Se examinaron 42 casos de *K. pneumoniae* tipo VIM aislados en un hospital griego. A grandes rasgos, la combinación colistina/imipenem mostró una mayor actividad bactericida cuando los microorganismos aislados eran sensibles a ambas o a colistina sola. Por el contrario cuando los microorganismos no eran sensibles a imipenem la combinación se mostró antagónica en un 55,6% y sinérgica en un 11%<sup>6</sup>.

Otros antibióticos estudiados han sido fosfomicina y aztreonam. Por su parte, fosfomicina puede ser una opción terapéutica, dado que conserva todavía actividad contra la mayoría de las enterobacterias multirresistentes. Las combinaciones estudiadas fueron con meropenem, colistina y gentamicina sobre *K. pneumoniae* tipo KPC, siendo la combinación más óptima fosfomicina/meropenem, con una actividad sinérgica en el 64,7% de los casos<sup>6</sup>.

## ESQUEMAS TERAPEUTICOS FRENTE A EPC. DEL LABORATORIO AL PACIENTE

Debido a la escasez de datos clínicos convincentes, la elección del tratamiento antibiótico frente a de infecciones por EPC es controvertida. La mayoría de la información que disponemos actualmente se basa en estudios retrospectivos, observacionales y series de casos frente a EPC tipo VIM o KPC. Para establecer una adecuada estrategia terapéutica deberíamos basarnos en ensayos controlados aleatorizados, de los que sin embargo no disponemos hasta la fecha. Nos encontramos con limitadas opciones terapéuticas que nos han obligado a reutilizar antibióticos como son las polimixinas, debido a su alta sensibilidad frente a EPC<sup>7</sup>. Su uso clínico se vio obstaculizado, en la década de los 60 por sus efectos secundarios, principalmente por la nefrotoxicidad y las escasas recomendaciones existentes de dosificación. A la espera de resultados consistentes de los ensayos controlados en marcha en Europa y EE.UU (NCT01597973 y NCT01732550), los estudios preclínicos y observacionales parecen sugerir que la asociación de colistina y carbapenems mejora la mortalidad, convirtiéndola en una buena opción terapéutica.

Según los datos disponibles, el tratamiento combinado se ha mostrado superior frente a la monoterapia en términos de supervivencia. Son muchas las combinaciones que se han descrito: colistina/tigeciclina, colistina/carbapenems, colistina/aminoglucósidos y carbapenems /aminoglucósidos. Tzouveleakis et al.<sup>2</sup>, estudiaron 889 pacientes en los que se habían aislado EPC, principalmente tipo KPC, y en menor medida tipo VIM y tipo OXA-48. Los dividieron en tres grupos: pacientes que habían recibido tratamiento combinado, pacientes con monoterapia y pacientes con tratamiento inadecuado (antimicrobianos que no se habían demostrado activos *in vitro*). Las tasas de mortalidad se mostraron claramente menores en el grupo de pacientes que había recibido un tratamiento combinado, con un 30,7% de mortalidad cuando el tratamiento no había incluido ningún carbapenem, y un 18,8% de mortalidad cuando incluyó un carbapenem. Tumbarello et al.<sup>8</sup>, observaron como la terapia combinada con tres antibióticos, en concreto la combinación de tigeciclina, colistina y meropenem reducían las tasas de mortalidad a los 30 días, en comparación con otras opciones.

La recomendación actual en pacientes con infecciones graves o infecciones invasivas por EPC es que sean tratados con dos agentes activos. Dado que los carbapenems han demostrado ser eficaces tanto frente a los microorganismos productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) como frente a las EPC con CMI < 8 mg/L, las recientes guías publicadas en Enero de 2015 por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)<sup>9</sup> recomiendan que sea siempre el antibiótico de elección como base de la terapia combinada. Es importante recordar que para obtener la máxima eficacia de los carbapenems, la administración de meropenem debe ser con 2 g cada 8 horas en infusiones de 3 horas, como han mostrado los estudios de simulación farmacocinética. Por consiguiente, proponemos un esquema básico (figura 1), con el fin de facilitar la elección del tratamiento adecuado. La decisión del segundo

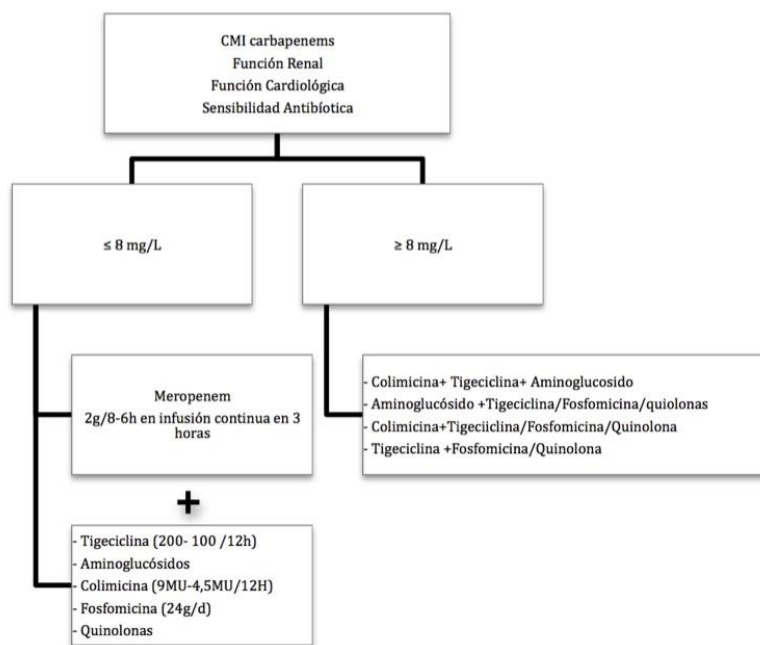


Figura 1 Esquema de elección de tratamiento

antibiótico es una cuestión que todavía permanece abierta, y que debe sopesarse valorando la función renal y cardiológica del paciente, así como del antibiograma. Los beneficios de un tercer antimicrobiano deberían evaluarse frente a los efectos adversos, el coste económico y las posibles interacciones farmacológicas, por lo que se considera que quedaría justificado cuando se presente una CMI elevada para los carbapenems. En último caso, la monoterapia con carbapenems quedaría restringida a infecciones leves, con un foco infeccioso localizado y una adecuada sensibilidad antibiótica.

Nuevos horizontes parecen abrirse frente al tratamiento de EPC. El avibactam es un nuevo inhibidor de las  $\beta$ -lactamasas, pero que todavía se encuentra en fase III, en vísperas de ser introducido para su uso clínico. *In vitro*, inhibe la actividad de enterobacterias tipo Ambler A (incluyendo tipo ESBL y tipo KPC) clase C (Amp C) y algunas enzimas de clase D (incluyendo tipo OXA 48, excepto las producidas por *A. baumannii*). Sin embargo no presenta actividad frente a EPC tipo MBL (es decir, tipo NDM, tipo VIM, tipo IMP). Otro nuevo antibiótico en estudio es plazomicin, todavía en fase III. Parece ser activo frente a EPC tipo KPC, aunque no para el tipo NMD. Una vez aprobados, se espera que ambos fármacos jueguen un papel importante en el tratamiento de las EPC, tanto en monoterapia como en terapia combinada.

## CONCLUSIONES

Nos encontramos ante un reconocido problema de salud pública. A pesar de ello, existe una brecha importante de conocimiento en cuanto a cómo gestionar de manera óptima el tratamiento antibiótico de estas infecciones. Disponemos de pocos datos que apoyen las recomendaciones, principalmente estudios retrospectivos que dependen de un pequeño número de pacientes. Es más que evidente la necesidad de algunos avances en la investigación. Existen datos alentadores, ya que se están llevando a cabo una serie de ensayos aleatorizados controlados, sin embargo la evidencia de alta calidad sigue faltando. A la espera de que los nuevos compuestos estén disponibles, es primordial usar racionalmente los antibióticos actuales, así como documentar sólidamente y diseñar ensayos clínicos con el objetivo de determinar la dosificación óptima, características PK/PD y combinaciones antibióticas. Mientras tanto sigue siendo crucial considerar cuidadosamente la estrategia terapéutica, basándose en la sensibilidad antibiótica, condición del paciente y datos clínicos disponibles.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism



- in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 2010;10:597-602.
2. Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Piperaki E, Souli M, Daikos GL. Treating infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:862-72.
  3. Rodríguez-Baño J, Cisneros JM, Gudiol C, Martínez JA. Treatment of infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2014;32 (Suppl 4):49-55.
  4. Zusman O, Avni T, Leibovici L, Adler A, Friberg L, Stergiopoulou T, Carmeli Y, Paul M. Systematic review and meta-analysis of in vitro synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:5104-11.
  5. Urban C, Mariano N, Rahal JJ. In vitro double and triple bactericidal activities of 62 doripenem, polymyxin B, and rifampin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother* 2010; 54:2732-4.
  6. Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: an evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev* 2012;25:682-707.
  7. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005;18:306-25.
  8. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Treccarichi EM, Tumietto F, Marchese A, et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis* 2012;55:943-50.
  9. Rodríguez-Baño J, Cisneros JM, Cobos-Trigueros N, Fresco G, Navarro-San Francisco C, Gudiol C, et al. Executive summary of the diagnosis and antimicrobial treatment of invasive infections due to multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. Guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015;33:337.e1-337.e21.

## Infección por gramnegativos resistentes

Patricia Salgado  
Fernando Gilsanz  
Emilio Maseda

### Aproximación terapéutica empírica a la infección por gramnegativos resistentes. Valor de los factores de riesgo

Servicio de Anestesia y Reanimación, Hospital Universitario La Paz, Madrid.

#### RESUMEN

La rápida diseminación de las bacterias multiresistentes se ha convertido en una grave amenaza, especialmente en las unidades de cuidados críticos, prolongando la estancia hospitalaria. Las enterobacterias tienen una alta capacidad de adaptación a cualquier medio. Son los plásmidos los que les facilita su expansión. La elección de un tratamiento empírico adecuado para la infección intraabdominal complicada y para la infección urinaria exige el conocimiento de la variabilidad microbiológica intrínseca de cada hospital o unidad de cuidados críticos, así como el origen de la infección, la seguridad o la toxicidad del antibiótico, la interacción con otros fármacos, la pauta de administración y la presencia de factores de riesgo. Los carbapenémicos son el fármaco de elección ante la sospecha de enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Los nuevos antimicrobianos, ceftazidima-avibactam y ceftolozano-tazobactam, abren nuevos horizontes esperanzadores en el tratamiento de enterobacterias multiresistentes.

**Palabras claves:**  $\beta$ -lactamasas; multiresistencia; enterobacterias

#### Resistant gram-negative bacteria. Therapeutic approach and risk factors

#### ABSTRACT

The rapid spread of multidrug-resistant bacteria has become a serious threat, especially in critical care units, thereby prolonging the hospital stay. Enterobacteriaceae have a high capacity to adapt to any environment. Plasmids are the reason

behind their expansion. The choice of empiric therapy for intra-abdominal or urinary infections requires knowledge of the intrinsic microbiological variability of each hospital or critical care unit, as well as the source of infection, safety or antibiotic toxicity, interaction with other drugs, the dosage regimen and the presence of risk factors. Carbapenems are the drug of choice in the case of suspected infection by ESBL-producing Enterobacteriaceae. The new ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam drugs are opening up promising new horizons in the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae.

**Key words:**  $\beta$ -lactamases; multiresistance; Enterobacteriaceae.

#### INTRODUCCIÓN

En la década de los ochenta, poco después de la comercialización de las cefalosporinas de amplio espectro, se registraron por primera vez la presencia de enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en el este de Europa. Paulatinamente, se han ido convirtiendo en un problema de salud pública, debido a la rápida diseminación de una familia específica de BLEEs, las enzimas CTX-M. La evolución y propagación de estas bacterias multiresistentes se ha constituido como una grave amenaza, especialmente en las unidades de cuidados intensivos, donde la suma del uso de antibiótico frecuente y de un mayor número de pacientes inmunodeprimidos, crea un medio susceptible para la propagación de estos patógenos oportunistas. Tal vez, lo más inquietante sea la creciente amenaza de las enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC), que ha surgido como consecuencia de un aumento en el uso de los carbapenémicos para el tratamiento de bacterias productoras de BLEE. Más del 21% de las infecciones nosocomiales son causadas por patógenos resistentes<sup>1</sup>. Como consecuencia, estas bacterias multiresistentes, frecuentemente causantes de infecciones intraabdominales y de tracto urinario, provocan prolongación de la estancia hospitalaria (de 6,4 a 12,7 días), mayor número de complicaciones

Correspondencia:  
Emilio Maseda  
Servicio de Anestesia y Reanimación, Hospital Universitario La Paz.  
Paseo de la Castellana 261, 28046, Madrid, España.  
Tfno.: +34917277000;  
Fax: 34917291166  
E-mail: emilio.maseda@gmail.com

y disminución de la eficacia de los tratamientos<sup>2</sup>. Se estima que las complicaciones asociadas a la resistencia de antibióticos cuesta 9.000 millones de euros al año a Europa<sup>3</sup>. Aunque inicialmente el problema ha estado centrado en el ámbito hospitalario, en la última década, esta situación ha cambiado y es cada vez más frecuente el aislamiento de cepas productoras de BLEEs en el medio extrahospitalario, siendo la principal cepa responsable *E. coli*, una especie bacteriana comensal normal en los seres humanos.

El objetivo de este artículo es presentar una visión general del problema actual de la multiresistencia y proporcionar una opción terapéutica empírica en pacientes con infecciones intraabdominales o infecciones urinarias.

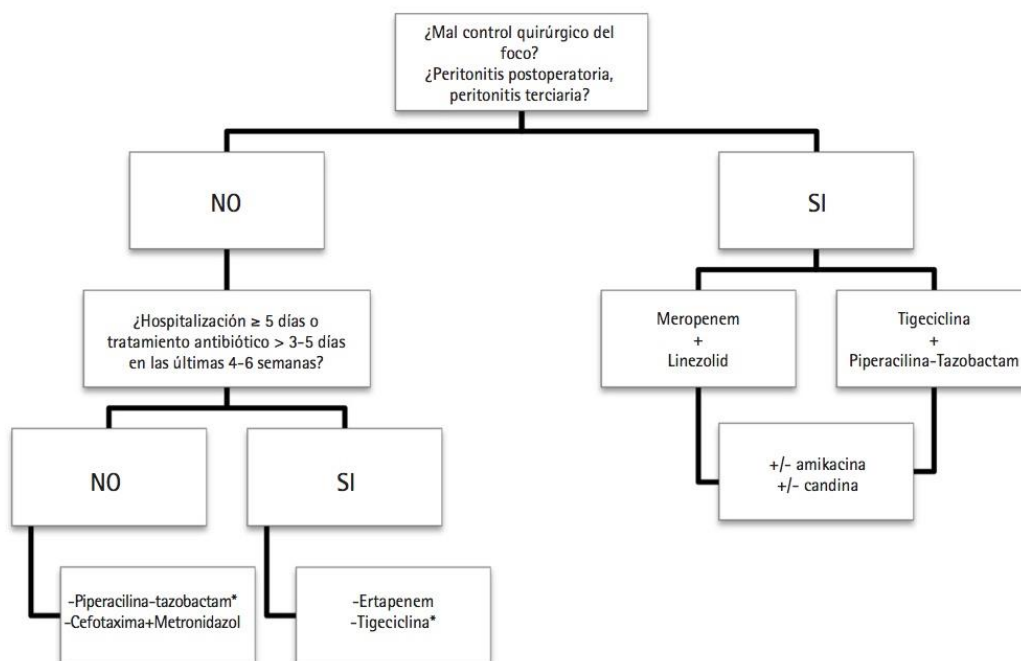
### ORÍGENES Y EPIDEMIOLOGÍA

Es probable, que la presión de selección causada por el uso de millones de toneladas de antibióticos en los últimos 80 años, tanto en la ganadería como en el uso humano, junto con los residuos hospitalarios sean los principales precursores de resistencias bacterianas. Un ejemplo claro de esta evolución de

resistencia bacteriana son las β-lactamasas o carbapenemasas. Los suministros de agua potable pueden contener *E.coli* altamente resistente tanto en países subdesarrollados como desarrollados. Se han aislado en los animales domésticos bacterias multiresistentes similares a las humanas<sup>4</sup>.

En general las bacterias gramnegativas tienen alta capacidad de adaptación a cualquier medio debido a la combinación de varios mecanismos de defensa. La principal barrera de resistencia que presentan es su membrana externa (determinado por el número de porinas) o la sobreexpresión de bombas de expulsión activa. La disminución del número de porinas se ha descrito como causa de resistencia al imipenem, las principales causantes son OmpK35 y OmpK36 en *Klebsiella pneumoniae* y OmpC en *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* y *Citrobacter freundii*. Otra forma menos frecuente de resistencia es la hiperproducción del gen *bla<sub>amp</sub>* en *E.coli* que le confiere varios grados de resistencia a diversas penicilinas, combinaciones de β-láctamicos con inhibidores de β-lactamasas y cefalosporinas.

Sin embargo, la hidrolización del anillo β-lactámico por las enzimas β-lactamasas es el principal mecanismo de resis-



**Tabla 1** Peritonitis secundaria. Elección del tratamiento antibiótico empírico

\*Pauta de elección en pacientes con valvulopatías, material protésico endovascular, o tratamiento previo con una cefalosporina (posible participación de *Enterococcus spp*)



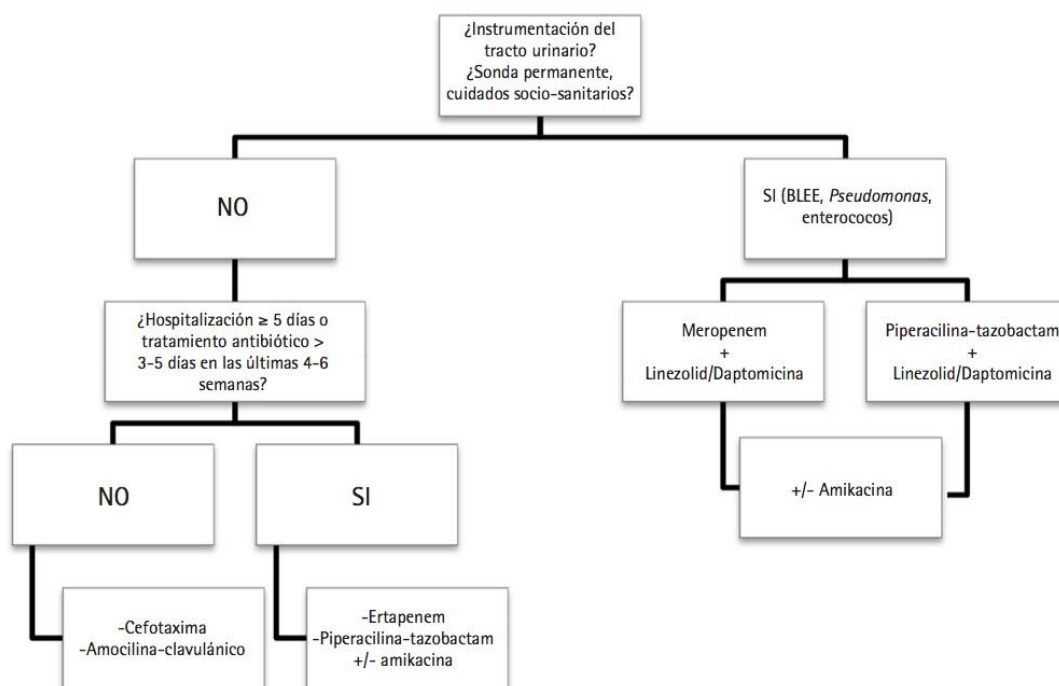
tencia de las bacterias productoras de BLEE. Las familias que muestran el fenotipo BLEE son TEM, SHV y CTX-M principalmente, seguidas de OXA, PER y VEB. CTX-M se ha convertido en la enzima más común, desplazando a TEM y SHV. Estas enzimas derivan de genes cromosómicos que han sufrido mutaciones, movilización e integración de diferentes estructuras genéticas, siendo la mayoría de ellas codificadas por plásmidos. Son estos plásmidos o los integrones los que les proporcionan alta capacidad de expansión y prevalencia en las diferentes regiones europeas, mediante la transmisión horizontal entre diferentes especies y diferentes familias bacterianas, agravando aun más el problema. Los plásmidos que transportan BLEE frecuentemente codifican resistencia a otros antimicrobianos, tales como aminoglucósidos, cloranfenicol, tetraciclinas y trimetoprim-sulfametoxazol.

Cada año en Estados Unidos, al menos 2 millones de personas adquieren infecciones graves por bacterias resistentes. Como consecuencia directa, se registran anualmente 23.000 muertes<sup>6</sup>. Este dato es algo mayor cuando nos referimos a Europa, en el que se estiman que mueren cada año 25.000 personas. Por esta razón, tanto el Centro Europeo como el

Americano para el Control y la Prevención de Enfermedades, publican regularmente informes centrados en la resistencia a los antimicrobianos, su impacto en la salud y en la economía<sup>3</sup>.

La mayoría de estas muertes están producidas por microorganismos multirresistentes como enterobacterias productoras de BLEE, EPC, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes. *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* son de los patógenos más frecuentes en los hospitales, representando el 27% de todos los patógenos y el 70% de las bacterias gramnegativas que causan infecciones nosocomiales en Estados Unidos<sup>6</sup>. Son precisamente las enterobacterias las principales responsables de las infecciones del tracto urinario y digestivo.

Si nos centramos en los datos más recientes de los informes europeos de vigilancia antibiótica, la prevalencia de resistencia a *E. coli* y *Klebsiella* tipo BLEE varía notablemente de un país a otro. Probablemente este hecho está relacionado con factores como la disponibilidad de fármacos, así como su restricción, los residuos, gestión del agua y las condiciones de vida en general. En España, ha habido un notable aumento de la prevalencia de enterobacterias productoras de BLEE pasando de un 0,5%



**Tabla 2** Sepsis por infección del tracto urinario. Elección del tratamiento antibiótico empírico

\*Pauta de elección en pacientes con valvulopatías, material protésico endovascular, o tratamiento previo con una cefalosporina (posible participación de *Enterococcus* spp)

en el 2000 al 4,04% en el 2006<sup>7,8</sup>. En los datos obtenidos en el estudio SMART el organismo más frecuentemente aislado fue *E. coli* de origen comunitario (60,9%) en comparación con las infecciones nosocomiales (49,9%). El 7,5% de las enterobacterias aisladas eran productoras de BLEE, más frecuentemente *E. coli*, seguido de *K. pneumoniae*<sup>9</sup>. En España el grupo de las CTX-M representa el 72% del total de las enterobacterias productoras de BLEE detectadas, siendo la más frecuente CTX-M14 seguida de CTX-M15. Probablemente, la gran difusión de CTM-X15 en los últimos años sea debido a la inclusión del clon O25b-ST131, principal causante de la resistencia a las quinolonas<sup>7</sup>.

El principal factor que interviene en la alta prevalencia de las enterobacterias productoras de BLEE es la diseminación clonal. Una muestra de ello es la rápida diseminación del clon *E. coli* O25:H4-ST131, asociada a infecciones urinarias y con la diseminación del gen *bla*<sub>CTX-M-15</sub>. Este mismo problema ocurre en las EPC, más claramente en la especie *Klebsiella* productora de SHV-5 o SHV12, así como el clon ST258 productor de carbapenemasas tipo KPC.

## LA ELECCIÓN DE UN TRATAMIENTO EMPÍRICO ADECUADO

La elección de un tratamiento empírico eficaz para el tratamiento de la infección intraabdominal complicada o de la infección del tracto urinario (ITU) sigue siendo un reto. Una terapia empírica ineficaz se asocia a mayores tasas de fracaso terapéutico, infecciones de herida quirúrgica, reintervenciones quirúrgicas y mayores tasas de mortalidad<sup>10</sup>. Existen poca evidencia y ensayos clínicos para guiar una adecuada terapia empírica antibiótica en estos pacientes. A menudo estos enfermos son pacientes graves con múltiples comorbilidades. Por lo tanto la elección del fármaco requiere la consideración del origen de la infección, seguridad o toxicidad del antibiótico, interacción con otros fármacos, pauta de administración, así como la presencia de factores de riesgo. Se han descrito varios factores de riesgo para infecciones gramnegativas resistentes: el uso previo con antibióticos  $\beta$ -lactámicos, la presencia de dispositivos o procedimientos invasivos, la hospitalización en instalaciones sanitarias durante periodos prolongados y comorbilidades<sup>6</sup>.

Además, a la hora de elegir una terapia empírica antibiótica es fundamental tener en cuenta la variabilidad de la microbiología y los patrones de resistencia intrínsecos de cada hospital o unidad de cuidados críticos. Parece que los carbapenémicos son activos contra la mayoría de cepas productoras de BLEE y son de elección cuando hay riesgo de infección por enterobacterias productoras de BLEE<sup>11</sup>. El imipenem, el meropenem y el doripenem son activos frente a *P. aeruginosa*, si bien el doripenem presenta una CMI inferior y fue superior en pacientes con infecciones intraabdominales. La elección del carbapenémico depende del tipo de paciente, el origen de la infección y si el paciente es susceptible de estar infectado por *P. aeruginosa*. El ertapenem es una buena elección por su larga vida media. Sin embargo piperacilina en combinación con el tazobactam como inhibidor de la  $\beta$ -lactamasa es una alternativa como se ha mostrado en estudios *in vitro*, especialmente en infecciones

urinarias<sup>6</sup>. Presentamos los siguientes esquemas, con el fin de facilitar la elección terapéutica (tabla 1 y 2).

La tigeciclina presenta una actividad de amplio espectro frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, incluyendo enterobacterias productoras de BLEE y carbapenemasas. Existen pocos datos para su uso en la ITU<sup>12</sup>.

Dos nuevos antibióticos abren nuevos horizontes en el tratamiento de infecciones por enterobacterias productoras de BLEE: ceftolozano-tazobactam y ceftazidima-avibactam. El ceftolozano es una nueva cefalosporina que mejora la estabilidad frente a las enzimas betalactamasas tipo AmpC. Posee una CMI menor para *P. aeruginosa* en comparación con otras cefalosporinas de tercera generación. Su combinación con tazobactam ha demostrado una mayor actividad frente a bacterias gramnegativas resistentes, especialmente *P. aeruginosa* en comparación con cefalosporinas, carbapenémicos y piperazilina/tazobactam. También ha demostrado mayor actividad en enterobacterias productoras de BLEE. Sin embargo, no es activo frente a metalo- $\beta$ -lactamasas y EPC<sup>13</sup>.

Por otro lado, avibactam es un nuevo inhibidor de las  $\beta$ -lactamasas. *In vitro*, inhibe la actividad de enterobacterias tipo Ambler A (incluyendo tipo BLEE y tipo KPC) clase C (Amp C) y algunas enzimas de clase D (incluyendo tipo OXA 48, excepto las producidas por *A.baumannii*), sin embargo no es activo frente a metalo- $\beta$ -lactamasas (tipo NDM, tipo VIM, tipo IMP). El avibactam restaura y mejora la actividad de ceftazidima frente a las bacterias gramnegativas productoras de BLEE, carbapenemasa tipo A (KPC), algunas carbapenemasas tipo D (OXA) y clase C de Ambler (AmpC)<sup>11</sup>.

## CONCLUSIÓN

En el momento actual, el uso de cualquier antimicrobiano se ve comprometido con el desarrollo potencial de tolerancia o resistencia desde el primer momento que se emplea. La carga de resistencia antibiótica en las bacterias gramnegativas aumenta exponencialmente a todo el mundo. Disponemos de pocos ensayos clínicos que nos aporten información en la toma de decisiones. A la espera de que las nuevas combinaciones antibióticas estén disponibles en nuestros centros, se requiere una optimización del tratamiento antibiótico así como un uso racional.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Roberts RR, Scott RD, 2nd, Hota B, Kampe LM, Abbasi F, Schabowski S, et al. Costs attributable to healthcare-acquired infection in hospitalized adults and a comparison of economic methods. *Med Care* 2010;48(11):1026-35.
2. Asencio MA, Huertas M, Carranza R, Franco M, Castellanos J, Barbera JR, et al. Trend in the susceptibility of the most frequent bacterial pathogens isolated at Hospital General La Mancha Centro over 2010-2012 period. *Rev Esp Quimioter* 2014;27(4):261-8.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance



- threats in the United States. Department of Health and Human Services. 2013;Atlanta, GA.
4. Iredell J, Brown J, Tagg K. Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. *BML* 2016;352:h6420.
  5. Yang Q, Wang H, Sun H, Chen H, Xu Y, Chen M. Phenotypic and genotypic characterization of Enterobacteriaceae with decreased susceptibility to carbapenems: results from large hospital-based surveillance studies in China. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(1):573-7.
  6. Kaye KS, Pogue JM. Infections Caused by Resistant Gram-Negative Bacteria: Epidemiology and Management. *Pharmacother* 2015;35(10):949-62.
  7. Diaz MA, Hernández-Bello JR, Rodríguez-Bano J, Martínez-Martínez L, Calvo J, Blanco J, et al. Diversity of *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: second nationwide study. *J Clin Microbiol* 2010;48(8):2840-5.
  8. Hernández JR, Martínez-Martínez L, Canton R, Coque TM, Pascual A, Spanish Group for Nosocomial I. Nationwide study of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(5):2122-5.
  9. Canton R, Loza E, Aznar J, Calvo J, Cercenado E, Cisterna R, et al. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms from intra-abdominal infections and evolution of isolates with extended spectrum beta-lactamases in the SMART study in Spain (2002-2010). *Rev Esp Quimioter* 2011;24(4):223-32.
  10. Membrilla-Fernández E, Sancho-Insenser JJ, Girvent-Montllor M, Álvarez-Lerma F, Sitges-Serra A, Secondary Peritonitis Spanish Study G. Effect of initial empiric antibiotic therapy combined with control of the infection focus on the prognosis of patients with secondary peritonitis. *Surg Infect* 2014;15(6):806-14.
  11. Golan Y. Empiric therapy for hospital-acquired, Gram-negative complicated intra-abdominal infection and complicated urinary tract infections: a systematic literature review of current and emerging treatment options. *BMC Infect Dis* 2015;15:313.
  12. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2005;56(3):470-80.
  13. Farrell DJ, Flamm RK, Sader HS, Jones RN. Antimicrobial activity of ceftolozane-tazobactam tested against Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* with various resistance patterns isolated in U.S. Hospitals (2011-2012). *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(12):6305-10.