



“CARACTERIZACIÓN CLÍNICA-MICROBIOLÓGICA Y FACTORES DE RIESGO DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO”.

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Médicas.

Autor: Leticia Caiata.

Orientador: Rafael Vignoli.

Universidad de la República. Facultad de Medicina.

Escuela de Graduados.

Programa de Magíster en Ciencias Médicas Pro. In. Bio.

Montevideo, Uruguay.

2022

Proinbio

Escuela de Graduados – Facultad de Medicina

UDELAR

DOCUMENTO PARA ELABORAR ACTA EMITIDA POR BEDELÍA DE LA ESCUELA DE GRADUADOS

TESIS DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

Título: *“Caracterización clínica microbiológica y factores de riesgo de las bacteriemias por enterobacterias productoras de B-Lactamasas de espectro extendido en el Hospital Universitario”*

De: Dra. Leticia Caiata

DIA: 21 de abril 2023

Hora: 10:30

Modalidad: semipresencial

Salón de Seminarios - Instituto de Higiene.
Plataforma zoom

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL:

Presidente Dr. PhD. Julio Medina

Vocales: PhD Dra. Lorena Pardo y PhD José Di Conza

**Director Académico:
Dr. PhD. Rafael Vignoli**

Fallo del Tribunal Nota¹ **Excelente** Escala numérica²: **12**

JUICIO COMPLEMENTARIO ESCRITO (HASTA UN MÁXIMO DE 300 PALABRAS)

La tesis traduce un importante volumen de trabajo, metódico, realizado de manera multidisciplinaria dirigido a la caracterización de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido provenientes de bacteriemias en pacientes que se asistieron en el Hospital universitario y la búsqueda de los factores de riesgo de mal pronóstico en estas infecciones. Se trata de un tema relevante y pertinente para la Salud Pública y la

¹ Excelente. Muy satisfactorio. Satisfactorio. Aceptable y No aprobado.

² Utilizar escala de 1 al 12

comunidad científica. El trabajo exploró aspectos clínicos, factores de riesgo, clonalidad y una tipificación exhaustiva para responder las preguntas planteadas en la investigación.

El documento escrito se encuentra bien redactado y organizado. La presentación oral y gráfica del trabajo fue clara y logró sintetizar los aspectos más relevantes de la tesis. La tesista demostró solvencia y claridad frente a las preguntas del tribunal, así como buena receptividad frente a los comentarios, entre los que se incluye la comunicación de los resultados en una revista científica y se sugiere continúe sus estudios en el formato de doctorado.



Julio Medina
Casaretto



José Di Conza



Lorena Pardo

RESÚMEN (español).

INTRODUCCIÓN: Las infecciones del torrente sanguíneo se asocian con alta morbi- mortalidad, siendo frecuentemente causadas por enterobacterias, y cuando éstas producen β -lactamasas de espectro extendido (BLEEs), la morbi-mortalidad, duración internación y costos sanitarios son aún mayores.

OBJETIVO: Caracterizar los episodios de bacteriemia por enterobacterias en el Hospital Universitario en un período de 2 años.

METODOLOGÍA: Estudio observacional, analítico, casos controles (1:1), con recolección de datos retrospectiva. Población: pacientes ≥ 18 años atendidos en el Hospital Universitario en período 01/01/2014 - 30/11/2015, con hemocultivo positivo por enterobacteria. Recolección datos clínicos-epidemiológicos: revisión registros médicos. Estudio microbiológico: Identificación y susceptibilidad - equipo automatizado Vitek[®] 2 system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Sensibilidad a fosfomicina: disco-difusión (*E. coli*) y dilución en agar (resto de las enterobacterias). Ceftazidime-avibactam: disco-difusión. Aislamientos BLEE+ según Vitek: confirmación y caracterización de BLEE: reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación. Investigación mecanismos transferibles de resistencia a quinolonas (TMQR) *qnrB* y *aac(6')-Ib-cr*: PCR. Caracterización molecular enterobacterias BLEE más prevalentes: *MultiLocus Sequence Typing* (MLST) y Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE). Análisis casos y controles: I) Factores de riesgo bacteriemia BLEE: Casos - pacientes con bacteriemia por enterobacteria BLEE(+). Controles - pacientes con bacteriemia por enterobacteria BLEE (-) sensible a cefalosporinas tercera generación. II) Factores de riesgo mortalidad intrahospitalaria: Casos - pacientes con mortalidad hospitalaria por cualquier causa. Controles - pacientes egresados vivos. Análisis estadístico: paquete estadístico IBM SPSS Statistics 23. Análisis casos y controles: cálculo de *odd ratios* (OR) e intervalo de confianza al 95% (IC95%). Variables con $p \leq 0.05$ en análisis univariado incluídas en análisis multivariado (regresión logística). Proyecto aprobado por Comité Ética del Hospital de Clínicas y financiado por ANII (FMV_3_2016_1_126580, Fondo María Viña – 2016).

RESULTADOS:

Principales resultados microbiológicos:

174 episodios de bacteriemia y 178 enterobacterias recuperadas, con confirmación molecular de producción BLEE en 41 enterobacterias (23%): 29 *Klebsiella pneumoniae*, 7 *Escherichia coli*, 2 *Serratia marcescens*, 1 *Enterobacter cloacae*, 1 *Citrobacter freundii* y 1 *Morganella morganii*. *E. coli* enterobacteria más recuperada (n=69), pero *K. pneumoniae* la enterobacteria BLEE más prevalente (56 aislamientos y 29/56 BLEE+), seguida de *E. coli* (7/69). Distribución de las enterobacterias BLEE+ según enzima detectada: CTX- M-15: 32 aislamientos, CTX-M-15 + CTX-M-14: 3 aislamientos, CTX-M-2: 3, CTX-M-8: 2, SHV-5: 1. Susceptibilidad enterobacterias BLEE: meropenem 100%, ceftazidime-avibactam 100%, fosfomicina 100%, imipenem 98%, ertapenem 97,6%, colistin 92,7%, amikacina 85,4%, gentamicina 36,6%, tigeciclina 29,3%, piperacilina-tazobactam 26,8%, trimetoprim-sulfametoxazol 19,5%, ciprofloxacina 12,2%. Detección de mecanismos transferibles de resistencia a quinolonas (TMQR) en 33/41 aislamientos (80,5%): *aac(6')-Ib-cr*: 22 aislamientos, *qnrB*: 2 aislamientos, y *aac(6')-Ib-cr + qnrB*: 9 aislamientos. Detección de secuenciotipos "exitosos" en principales enterobacterias BLEE: *E. coli* ST 73 (1), ST 95(1) y ST 38 (2) y ST 258 en *K. pneumoniae* (12/29=41,4%). También detección ST 258 en un aislamiento de *K. pneumoniae* BLEE (-).

Principales resultados clínicos – epidemiológicos:

Se revisaron 98 registros médicos; 60 bacteriemias nosocomiales, 29 comunitarias, 8 asociadas a los cuidados de la salud, 1 sin dato. 41 BLEE(+) y 57 BLEE(-). 80 pacientes vivos al egreso, 17 fallecidos y 1 sin dato.

Factores de riesgo bacteriemia BLEE(+) (análisis multivariado) : presencia de dispositivo médico a permanencia previo (p 0,001, OR 55,2, IC 95%5,5-553) y bacteriemia no comunitaria (p 0,008 OR 17,4 IC95% 2,1-143).

Factores de riesgo mortalidad intrahospitalaria (análisis multivariado): enfermedad hematooncológica o neoplásica (OR 4,687 IC95% 1,207-18,200) y score *qPitt* ≥ 2 (OR 10,332 IC95% 2,639-40,442).

Antibioticoterapia empírica activa in vitro para la bacteriemia: 10/29(34,5%) en pacientes BLEE(+) y 36/40 BLEE(-) (90%). Se encontró asociación entre bacteriemia BLEE + y recibir antibioticoterapia empírica inactiva ($p < 0,0001$) ; siendo el riesgo de recibir antibioticoterapia empírica inactiva 17 veces mayor en bacteriemias BLEE(+) respecto a BLEE(-). Se encontró que la mediana de la duración de la hospitalización a partir del episodio de bacteriemia es más prolongada en casos BLEE+ que en los controles BLEE- (22,5 versus 14 días, $p = 0,006$).

CONCLUSIONES:

- ✓ Enterobacteria BLEE más prevalente *K. pneumoniae*, y dentro de ella alta prevalencia del clon exitoso de alto riesgo ST 258.
- ✓ Predominio de CTX-M-15, y alta prevalencia (> 80%) de TMQR en aislamientos BLEE.
- ✓ Presencia de BLEE aumenta significativamente el riesgo de recibir antibioticoterapia empírica inactiva.
- ✓ Necesidad de mantener vigilancia de perfiles de susceptibilidad y clones circulantes y considerar posibles factores de riesgo al momento de seleccionar antibioticoterapia empírica.

Palabras claves (Español): bacteriemias, enterobacterias, β -lactamasas de espectro extendido

ABSTRACT.

BACKGROUND: Bloodstream infections are associated with high morbidity and mortality, being frequently caused by *Enterobacteriaceae*, and when they produce extended spectrum β -lactamases (ESBL), morbidity, mortality and healthcare costs are even higher.

OBJECTIVE: We aimed to characterize *Enterobacteriaceae* bacteremia episodes at the "Hospital de Clínicas", in a 2 years period.

METHODS: Observational, analytical study, case-controls (1: 1), with retrospective data collection. Population: ≥ 18 years old patients attended at the "Hospital de Clínicas" between 01/01/2014 and 11/30/2015, with *Enterobacteriaceae* recovered from blood culture. Collection of clinical-epidemiological data: review of medical records. Microbiological study: identification and susceptibility: automated system Vitek[®] 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Susceptibility to fosfomicin: disc-diffusion (*E. coli*) and agar dilution (others *Enterobacteriales*). Ceftazidime-avibactam: disc-diffusion. ESBL (+) isolates according to Vitek: ESBL confirmation and characterization by Polymerase Chain Reaction (PCR) and sequencing. Investigation of transferable mechanisms of quinolone resistance (TMQR) *qnrB* and *aac(6')-Ib-cr*: PCR. Molecular characterization of the most prevalent ESBL enterobacteriales: MultiLocus Sequence Typing (MLST) and Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE). Case-control analysis: I) ESBL bacteremia risk factors: Cases - patients with bacteremia by an ESBL-producing enterobacteria. Controls - patients with third generation cephalosporin susceptible enterobacteria, not ESBL-producing. II) In-hospital mortality risk factors: Cases - patients with in-hospital mortality from any cause. Controls - patients discharged alive. Statistical analysis: IBM SPSS Statistics 23 statistical package. Case-control analysis: calculation of odd ratios (OR) and 95% confidence interval (95% CI). Variables with $p \leq 0.05$ in univariate analysis were included in multivariate analysis (logistic regression). Project approved by the Hospital de Clínicas Ethics Committee and financed by ANII (FMV_3_2016_1_126580, María Viña Fund - 2016).

RESULTS:

Main microbiological results:

174 bacteremia episodes and 178 enterobacteriales recovered. ESBL production confirmed in 41 isolates (23%): 29 *Klebsiella pneumoniae*, 7 *Escherichia coli*, 2 *Serratia marcescens*, 1 *Enterobacter cloacae*, 1 *Citrobacter freundii* y 1 *Morganella morganii*. *E. coli* was the most recovered enterobacteria ($n = 69$), but *K. pneumoniae* was the most prevalent ESBL producing specie (56 isolates and 29/56 ESBL +), followed by *E. coli* (7/69).

Distribution of ESBL producing enterobacteriales according to enzyme detected: CTX-M-15: 32 isolates, CTX-M-15 + CTX-M-14: 3 isoaltes, CTX-M-2: 3, CTX-M-8: 2, SHV-5: 1.

Antibiotic susceptibility in ESBL producers: meropenem 100%, ceftazidime-avibactam 100%, fosfomicin 100%, imipenem 98%, ertapenem 97,6%, colistin 92,7%, amikacin 85,4%, gentamicin 36,6%, tigecycline 29,3%, piperacillin-tazobactam 26,8%, trimethoprim sulfamethoxazole 19,5%, ciprofloxacin 12,2%.

Detection of TMQR in 33/41 isolates (80.5%): *aac(6')-Ib-cr*: 22 isolates, *qnrB*: 2 isolates, and *aac(6')Ib-cr + qnrB*: 9 isolates.

We detected "successful" sequence types within *E. coli* ESBL producing: ST 73 (1 isolate), ST 95 (1) and ST 38 (2) and a high prevalence of ST 258 among *K. pneumoniae* isolates (12/29 = 41.4%). ST 258 was also detected in one ESBL(-) *K. pneumoniae* isolate.

Main clinical-epidemiological results: 98 medical records were reviewed; 60 bacteremia episodes were classified as nosomial, 29 as community acquired, 8 health care associated, and for one episode, data was insufficient for its classification. 41 were ESBL(+) and 57 ESBL(-). 80 patients alive at discharge, 17 deceased and 1 without data.

Risk factors for ESBL bacteremia according to multivariate analysis were: use of medical device prior to hospitalization (OR = 50.226, 95% CI 4.367 - 577.721) and non-community bacteremia (OR 12.052, 95% CI 1.350-107.605).

In-hospital mortality risk factors (multivariate analysis): hemato-oncological or neoplastic disease (OR 4,687 95% CI 1,207-18,200) and qPitt score ≥ 2 (OR 10,332 95% CI 2,639-40,442). The empirical antibiotic therapy was active according to the susceptibility test in 10/29 (34,5%) patients with ESBL (+) bacteremia and in 36/40 patients with ESBL (-) (90%).

Presence of ESBL was found to be associated with inactive empirical antibiotic therapy ($p < 0.0001$), and risk for receiving inactive empirical antibiotic therapy was 17 times higher in ESBL (+) compared to ESBL (-). The mean length of hospital stay after the onset of bacteraemia was longer in the cases of ESBL producers than in the cases of non-ESBL producers (22,5 vs. 14 days; $P=0.006$).

CONCLUSIONS:

- ✓ *K. pneumoniae* was the most prevalent ESBL producing specie, and within it we found a high prevalence of the successful high-risk clone ST258.
- ✓ CTX-M-15 was the main ESBL detected and we found high prevalence (80%) of TMQR among ESBL(+).
- ✓ Presence of ESBL significantly increases the risk of receiving inactive empirical antibiotic therapy. Need to maintain surveillance of susceptibility profiles and circulating clones and to take into account possible risk factors when selecting empirical antibiotic therapy.

Key words: Bacteremia., Enterobacteriaceae, Extended spectrum beta-lactamases.

Contenido

Contenido	8
MARCO TEÓRICO.....	14
INTRODUCCIÓN:	14
CONOCIENDO LOS MECANISMOS MOLECULARES DE LA RAM: βLACTÁMICOS Y β-LACTAMASAS.	15
DETECCIÓN DE LAS BLEES DESDE EL LABORATORIO:	27
INFORME DEL PERFIL SE SUSCEPTIBILIDAD EN ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE.	30
EPIDEMIOLOGÍA DE LAS BLEES:	30
HERRAMIENTAS DE EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR	34
INFECCIONES DEL TORRENTE SANGUÍNEO:	37
SEPSIS.	40
ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS RELEVANTES EN LOS PACIENTES CON BACTERIEMIA Y SEPSIS:	41
¿Y QUÉ PASA CUANDO EL AGENTE PRODUCE BLEE? – FACTORES PRONÓSTICOS.	47
FACTORES DE RIESGO PARA INFECCIONES POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEES.	53
TRATAMIENTO EMPÍRICO EN PACIENTES CON INFECCIONES POR BLEE+.	55
HIPÓTESIS.....	62
OBJETIVOS.....	63
Objetivos Generales:	63
Objetivos específicos:	63
METODOLOGÍA.....	64
Definiciones y variables:	65
Metodología para el análisis microbiológico:	67
Análisis:	83
Análisis clínico:	83
Análisis estadístico:	83
RESULTADOS.....	85
Primera parte: Aspectos Microbiológicos- aislamientos.	85
Segunda parte: aspectos clínicos	101
a)Generalidades.....	101

b)Análisis de casos y controles.....	102
DISCUSIÓN.....	125
Aspectos microbiológicos en las bacteriemias por enterobacterias.	125
Aspectos clínicos en las bacteriemias por enterobacterias.	132
Fortalezas y limitaciones del presente estudio.	135
CONCLUSIONES.....	138
PERSPECTIVAS.....	140
BIBLIOGRAFÍA.....	142
ABREVIATURAS.....	154
ANEXO 1: APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA DEL HOSPITAL DE CLÍNICAS.....	158
ANEXO 2: VARIABLES EN ESTUDIO.....	159
ANEXO 3: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	169
ANEXO 4: SOLUCIONES UTILIZADAS en PFGE.....	172
ANEXO 5: DIFUSIÓN.....	173

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 1: Ejemplos de diferentes β -lactámicos.....	16
Tabla 2: Grupos dentro de la familia CTX-M.....	22
Tabla 3: Ejemplos de factores de virulencia en ExPEC.....	43
Tabla 4: Ejemplos de genes de virulencia descritos en <i>K. pneumoniae</i>	45
Tabla 5: Parámetros para el cálculo del SCORE APACHE II.....	49
Tabla 6: Score “quick Pitt” para bacteriemia.....	50
Tabla 7: Índice de Charlson.....	51
Tabla 8: Predictores para riesgo de bacteriemia por enterobacteria BLEE según Lee et al....	54
Tabla 9: Listado de las variables estudiadas en el presente trabajo.....	66
Tabla 10: Resumen de métodos y puntos de quiebre utilizados para el estudio de susceptibilidad, bacteriemias por enterobacterias, 2014-2015, Hospital de Clínicas.....	68
Tabla 11: Receta básica para realización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	70
Tabla 12: Cebadores utilizados para las reacciones de PCR para genes <i>bla</i>	72
Tabla 13: Cebadores utilizados para la PCR y el envío para secuenciación genes <i>bla</i>	74
Tabla 14: Cebadores para PCR <i>qnrB</i>	74
Tabla 15: Cebadores utilizados en la PCR para <i>aac</i>	75
Tabla 16: Mezcla utilizada para armado de los bloques de electroforesis en gel de campo pulsado para enterobacterias.....	76
Tabla 17: Mezcla de la restricción para PFGE enterobacterias.....	77
Tabla 18: Condiciones para la PCR para el gen <i>pilV</i>	78

Tabla 19: Cebadores empleados para la investigación del gen <i>pilV</i>	78
Tabla 20: Cebadores utilizados para determinación del secuenciotipo en <i>K. pneumoniae</i> mediante MLST.....	79
Tabla 21: Receta y condiciones de ciclado para la PCR multiplex ST“exitosos” <i>E. coli</i>	80
Tabla 22: Cebadores utilizados en la PCR para ST “exitosos” <i>E. coli</i>	80
Tabla 23: Cebadores utilizados para determinación del secuenciotipo en <i>E. coli</i> mediante MLST.....	81
Tabla 24: PCR multiplex para grupo filogenético <i>E. coli</i>	82
Tabla 25: Cebadores para PCR multiplex grupo filogenético <i>E. coli</i>	82
Tabla 26: Episodios de bacteriemia con aislamiento de 2 enterobacterias en hemocultivo, Hospital de Clínicas 2014-2015.....	85
Tabla 27: Enterobacterias BLEE (+) según Vitek 2 system® sin confirmación fenotípica ni molecular, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015.....	86
Tabla 28: Distribución en frecuencia absoluta de las enterobacterias incluidas en el estudio, según género/especie y presencia de BLEE confirmada, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=177).....	88
Tabla 29: Resumen de la susceptibilidad antibiótica en enterobacterias BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=41).....	89
Tabla 30: Susceptibilidad antibiótica en aislamientos <i>E. coli</i> BLEE(+), bacteriemias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=7).....	90
Tabla 31: Susceptibilidad antibiótica en aislamientos <i>K. pneumoniae</i> BLEE(+), bacteriemias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=29).....	91
Tabla 32: Susceptibilidad antibiótica en aislamientos de <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Serratia marcescens</i> y <i>Morganella morganii</i> BLEE(+), bacteriemias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=5).....	92
Tabla 33: Genes <i>bla</i> encontrados, según especie de enterobacteria, Hospital de Clínicas, bacteriemias 2014-2015 (n=41).....	93
Tabla 34: Distribución de aislamientos BLEE+ según CIM ciprofloxacina, bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.....	95
Tabla 35: Tabla cruzada CIM ciprofloxacina (ug/ml) y presencia de <i>qnrB</i> en enterobacterias BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015.....	95
Tabla 36: Tabla cruzada para resultado PCR <i>aac(6’)-Ib</i> vs CIM amikacina, bacteriemias enterobacterias BLEE(+), Hospital de Clínicas 2014-2015.....	96
Tabla 37: Distribución en frecuencia absoluta de los aislamientos <i>aac(6’)-Ib-cr</i> positivos según la CIM de ciprofloxacina, bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.....	96
Tabla 38: Enterobacterias BLEE(+) con <i>aac(6’)-Ib-cr</i> y <i>qnrB</i> , bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=9).....	96
Tabla 39: Genes <i>bla</i> , grupo filogenético, secuenciotipo y tipo de bacteriemia de <i>E. coli</i> BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=7).....	97
Tabla 40: Determinantes <i>bla</i> , TMQR, secuenciotipo y tipo epidemiológico de bacteriemia en <i>K. pneumoniae</i> BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015.....	98
Tabla 41: Principales características demográficas de los pacientes con bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas, 2014-2015, (n=174).....	101

Tabla 42: Características de los pacientes incluidos en el análisis casos-controles, bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).	102
Tabla 43: Tabla cruzada etiología de la bacteriemia por enterobacteria versus tipo epidemiológico de bacteriemia, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=97).....	105
Tabla 44: Tabla cruzada etiología de la bacteriemia versus presencia de BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).	106
Tabla 45: Tabla cruzada presencia de BLEE versus tipo epidemiológico de bacteriemia, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=97).	107
Tabla 46: Características de los pacientes en los grupos bacteriemia BLEE (+) y bacteriemia BLEE (-), Hospital de Clínicas 2014-2015, (n=98).	108
Tabla 47: Tabla cruzada para foco de la bacteriemia por enterobacteria versus producción de BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).	110
Tabla 48: Resumen del modelo de regresión logística binaria – factores de riesgo BLEE.	111
Tabla 49: Variables en la ecuación regresión logística para investigación de factores de riesgo para bacteriemia por enterobacteria BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015.	111
Tabla 50: Características de los pacientes en el grupo status vivo al egreso y en el grupo status fallecido al egreso, incluidos en el análisis casos y controles para mortalidad intrahospitalaria, bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas 2014-2015.....	113
Tabla 51: Resumen del modelo de regresión logística binaria, factores de riesgo para mortalidad intrahospitalaria en pacientes con bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas 2014-2015.	115
Tabla 52: Variables en la ecuación regresión logística para investigación de factores de riesgo para mortalidad intrahospitalaria en pacientes con bacteriemia por enterobacteria, Hospital de Clínicas 2014-2015.	116
Tabla 53: Actividad de la antibioticoterapia empírica para episodio de bacteriemia por enterobacteria, según producción de BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015, (n=69).	120
Tabla 54: Antibióticos en pacientes cuyo plan empírico resultó INACTIVO, estratificados según presencia de BLEE, bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.....	121
Tabla 55: Antibióticos en pacientes cuyo plan empírico resultó ACTIVO, estratificados según presencia de BLEE, bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.	122

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1: Relaciones moleculares y funcionales entre β -lactamasas.....	19
Figura 2: Esquema de las condiciones estándar de ciclado utilizadas para la PCR.	71
Figura 3: Flujograma para la caracterización de los genes <i>bla</i> , bacteriemias por enterobacterias, Hospital de Clínicas, 2014-2015.	72
Figura 4: Flujograma para asignación de grupo filogenético en aislamientos de <i>E.coli</i> utilizando los resultados de la PCR para amplificación de los genes <i>chuA</i> , <i>yjaA</i> y el fragmento génico TSPE4.C2. Tomado de: Clermont O et al. Rapid and simple determination of the <i>Escherichia coli</i> phylogenetic group (70)	83
Figura 5: Episodios de bacteriemia por enterobacterias y distribución de los aislamientos según detección fenotípica (Vitek 2 system [®]) y molecular de BLEE. Hospital de Clínicas 2014-2015.....	86

Figura 6: Resumen de <i>TMQR</i> (<i>qnrB</i> y <i>aac</i> (6')- <i>Ib-cr</i>) encontrados en enterobacterias BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.	94
Figura 7: Distribución de las enterobacterias BLEE(+) según presencia de <i>aac</i> (6')- <i>Ib</i> y <i>aac</i> (6') <i>Ib-cr</i> , bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015.	96
Figura 8: Dendrograma de <i>PFGE E. coli</i> BLEE(+), bacteriemias 2014-2015, Hospital de Clínicas.	97
Figura 9: Dendrograma de <i>PFGE K. pneumoniae</i> BLEE(+), bacteriemias 2014-2015, Hospital de Clínicas.	100
Figura 10: Pulsotipos encontrados dentro del ST 258 <i>K. pneumoniae</i> BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=12).	101
Figura 11: Distribución, en frecuencia absoluta y según producción de BLEE, de los pacientes con bacteriemia por enterobacterias incluidos en el análisis casos y controles, Hospital de Clínicas 2014-2015.	108
Figura 12: Distribución, en frecuencia absoluta y según status al egreso de los pacientes con bacteriemia por enterobacterias incluidos en el análisis casos y controles, Hospital de Clínicas 2014-2015.	112
Figura 13: Distribución de los pacientes, en frecuencia absoluta, según antibioticoterapia durante la internación, previa a la extracción del hemocultivo, bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).	117
Figura 14: Distribución, en frecuencia absoluta, de los pacientes según presencia y número de antibióticos administrados empíricamente para la bacteriemia, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).	119
Figura 15: Distribución de los pacientes con antibioticoterapia empírica inactiva, según número de antibióticos recibidos, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=23).	121
Figura 16: Distribución de los pacientes con antibioticoterapia empírica activa, según número de antibióticos recibidos, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=46).	122
Figura 17: Distribución, en frecuencia absoluta, según cambio en el tratamiento en función del resultado del hemocultivo, de los pacientes con bacteriemia por enterobacteria, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).	123

ÍNDICE DE GRÁFICOS.

Gráfico 1: Susceptibilidad antibiótica en enterobacterias BLEE(+) en porcentaje, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015, (n=41).	90
Gráfico 2: Distribución, en frecuencia absoluta, de los aislamientos de enterobacterias BLEE(+) según genes <i>bla</i> , bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015, n=41.	94
Gráfico 3: Distribución (frecuencia absoluta) de las enterobacterias recuperadas, según producción de BLEE, en pacientes incluidos en el análisis de casos y controles, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015	106
Gráfico 4: Distribución, en frecuencia absoluta, de los pacientes con bacteriemia por enterobacteria, según tipo de antibiótico recibido durante la internación, previo a la extracción del hemocultivo, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=40).	118

Gráfico 5: Distribución, en frecuencia absoluta, de los pacientes con bacteriemia por enterobacteria que recibieron antibioticoterapia empírica, según tipo de antibiótico recibido, Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=69).	119
Gráfico 6: Actividad de la antibioticoterapia empírica para episodio de bacteriemia por enterobacteria, según producción de BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015, (n=69).	120
Gráfico 7: Nueva antibióticoterapia ajustada según resultado del hemocultivo, en frecuencia absoluta y estratificada según presencia de BLEE, bacteriemia por enterobacteria, Hospital de Clínicas 2014-2015.	124

MARCO TEÓRICO

INTRODUCCIÓN:

La resistencia antimicrobiana (RAM) es una de las principales causas de muerte a nivel mundial, suponiendo una verdadera amenaza para la salud pública. Se estima que durante 2019 se produjeron 4.95 millones de muertes a nivel mundial asociadas con RAM (de las cuales, 1.27 millones fueron directamente atribuidas a la resistencia a drogas) (1).

Los tres principales síndromes responsables de la mortalidad asociada y atribuible a RAM fueron: la infección respiratoria baja, seguida de la infección del torrente sanguíneo y la infección intraabdominal. En su conjunto estos síndromes determinaron el 78.8% de las muertes atribuibles a RAM en 2019 (1).

Cada uno de los siguientes 6 patógenos fue responsable en 2019 de más de 250.000 muertes asociadas a RAM: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* (1).

Como causa de muerte atribuible a RAM, *E. coli* fue la responsable de la mayoría de las muertes, seguida de *K. pneumoniae* y *S. aureus*, dentro de los 3 primeros puestos (1).

La RAM dentro de estos 6 principales patógenos constituye así una importante amenaza para la salud mundial. La resistencia a β lactámicos (antibióticos de primera línea en antibioticoterapia empírica para infecciones severas) y fluoroquinolonas entre estos microorganismos fue responsable de más del 70% de la mortalidad atribuible a RAM entre los mencionados patógenos(1).

Dentro de las principales combinaciones microorganismo-resistencia antimicrobiana destacan: *S. aureus*-meticilino resistente (>100.000 muertes atribuibles a RAM) y luego, con 50.000 – 100.000 cada uno, aparecen los bacilos Gram negativos: *E. coli* resistente a cefalosporinas de tercera generación, *A. baumannii* resistente a carbapenems, *E. coli* resistente a fluoroquinolonas, *K. pneumoniae* resistente a carbapenems, y *K. pneumoniae* resistente a cefalosporinas de tercera generación (1).

Estos patógenos también han sido identificados en la lista prioritaria de la OMS para la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos para bacterias resistentes (2), dado que la industria farmacéutica no ha logrado dar respuesta a la cada vez más creciente necesidad clínica de nuevas moléculas. Encabezando esta lista, y considerándose como “microorganismos críticos” se encuentran: *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenems, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenems, y *Enterobacteriaceae* resistente a carbapenems o a cefalosporinas de tercera generación.

Se estima que para 2050, 10 millones de vidas al año (más de las que se pierden actualmente por cáncer) y un acumulado de 100.000 millones de dólares de producción económica se perderán debido al aumento de infecciones por bacterias fármaco-resistentes (3).

Así, la RAM debe concebirse como una amenaza sanitaria y económica global: sus consecuencias negativas afectan tanto la salud humana, como la sanidad animal y el medio ambiente (4). Una amenaza global requiere una respuesta global, surgiendo así el abordaje “One Health”, que integra estos conceptos en una interfaz animal-hombre-ecosistema y destaca la necesidad de una acción internacional, intersectorial e interdisciplinaria para lograr una

estrategia efectiva contra la RAM, que promueva y proteja el status sanitario de las personas, animales y medio ambiente(4).

Una de los pilares claves en la lucha contra la RAM es la vigilancia integrada de la misma. Desde la perspectiva de la salud humana esto permite, entre otros aspectos, conocer la prevalencia de los diferentes patógenos asociados a los diferentes síndromes infecciosos y sus patrones de resistencia, fundamental para guiar la selección de tratamientos empíricos. Pero dado que estos patrones tienen variaciones geográficas, y aún dentro de una misma región también pueden variar de un centro de salud a otro, la vigilancia RAM a nivel institucional resulta imprescindible.

Así mismo, el conocimiento sobre los mecanismos moleculares de la RAM puede permitir un mejor conocimiento sobre su desarrollo y diseminación, interhumana y eventualmente también dentro de la mencionada interfase hombre-animal-ecosistema (4) .

Con respecto a Uruguay cabe destacar que en 2018 se publica el “Plan Nacional de Acción contra la Resistencia Antimicrobiana, abordaje desde la Salud Pública” (5) con cuatro componentes fundamentales: 1) generación de conocimiento y evidencia sobre la RAM, 2) concientización, 3) control y prevención de IAAS (Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud), 4) consumo de antimicrobianos.

Esta tesis se centra en varios de los aspectos mencionados, como lo son las infecciones del torrente sanguíneo producido por Enterobacteriales resistentes a cefalosporinas de tercera generación y se enmarca en el Plan Nacional de Acción contra la Resistencia Antimicrobiana, abordaje desde la Salud Pública” fundamentalmente en el componente 1 y 3. Teniendo en cuenta que las cefalosporinas de tercera generación forma parte de la familia de antibióticos β -lactámicos, se describirán a continuación las principales características de esta familia de antibióticos y sus mecanismos de resistencia.

CONOCIENDO LOS MECANISMOS MOLECULARES DE LA RAM: β LACTÁMICOS Y β -LACTAMASAS.

β -lactámicos:

Se trata de antibióticos bactericidas, ampliamente utilizados en la práctica clínica, que ejercen su acción inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana. Dentro de esta familia se distinguen diferentes clases en función de su estructura química (ver tabla 1): penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenems. Así mismo también pueden encontrarse algunos de estos β -lactámicos en combinación con inhibidores de β -lactamasas (sulbactam, ácido clavulánico, tazobactam, avibactam, etc) (6).

Tabla 1: Ejemplos de diferentes β -lactámicos.

β-lactámicos	Ejemplos
Penicilinas	Naturales: penicilina G, penicilina V
	Resistentes a penicilinasas (semisintéticas): cloxacilina, meticilina, oxacilina.
	De espectro extendido: aminopenicilinas (amoxicilina, ampicilina), carboxipenicilinas (ticarcilina), ureidopenicilinas (piperacilina).
	Penicilinas con inhibidores de β -lactamasas: ampicilina-sulbactam, amoxicilina-clavulánico, piperacilina-tazobactam, ticarcilina-clavulánico.
Cefalosporinas	Primera generación (espectro reducido): cefazolina, cefalexina, cefradina.
	Segunda generación (espectro expandido): cefuroxime, cefaclor.
	Tercera generación (amplio espectro): cefotaxime, ceftriaxona, ceftazidime, cefoperazona, cefpodoxime, cefixime.
	Cuarta generación (espectro extendido): Cefepime
	Quinta generación: ceftarolina, ceftobiprole.
Carbapenems	imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem.
Monobactámicos	aztreonam.

Inhibidores de β-lactamasas	Derivados de β -lactámicos: ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam. No β -lactámicos: avibactam, relebactam, vaborbactam.
---	--

Adaptado de Yao JD, Mollering RC. Antibacterial Agents. En: Manual of Clinical Microbiology, 10th edition, 2011, ASM Press, Washington DC, p1043-p1081 (6)

La diseminación de diferentes mecanismos de resistencia en bacilos Gram negativos ha significado que algunos antibióticos antes fundamentales en la terapéutica (como las cefalosporinas de tercera generación) no representen hoy día opciones efectivas de tratamiento (por ejemplo frente a aislamientos productores de β -lactamasas de espectro extendido - BLEE), lo que ha determinado una mayor prescripción de carbapenems. Estos últimos a su vez, han visto limitada su efectividad en relación a la aparición y diseminación de enterobacterias resistentes frente a ellos, fundamentalmente a través de la producción de carbapenemasa (7).

Así tratando de mantener la actividad de β -lactámicos, desde siempre piedras angulares en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, se han desarrollado inhibidores de β -lactamasas (IBL) que logran una disminución relativa en la cantidad de enzima β -lactamasa disponible para atacar al antibiótico e hidrolizarlo, logrando que éste pueda mantener su actividad (8). Estos inhibidores pueden cumplir su función por unión competitiva y transitoria con el sitio activo de la enzima bacteriana o mediante una inhibición suicida. Los IBL como ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam logran inhibir muchas enzimas de clase A (excepto carbapenemasas como KPC), pero no tienen actividad sobre las clases B, C, ni D (ver más adelante clasificación de β -lactamasas). Por otro lado, avibactam, relebactam y vaborbactam son nuevos IBLs capaces de inhibir enzimas clase A (como BLEEs, y carbapenemasas tipo KPC), C y algunas de clase D como OXA-48, aunque carecen de actividad contra las enzimas clase B y las carbapenemasas de clase D presentes en *Acinetobacter baumannii* (8), (9).

Mecanismo de acción de los β -lactámicos.

El principal mecanismo de acción de los β -lactámicos, consiste en la inhibición de la última etapa de la síntesis del peptidoglicano. La síntesis del peptidoglicano es un proceso complejo que involucra alrededor de 30 diferentes enzimas y que implica una etapa intra citoplasmática, una transmembrana y una final, extracelular (10). Los β -lactámicos inhiben esta última, donde la subunidad básica del peptidoglicano (monómero discárido de *N*-acetilglucosamina y *N*-acetilmurámico pentapéptido precursor) es incorporada al polímero en formación y se realiza el entrecruzamiento peptídico y la maduración del peptidoglicano, lo cual es fundamental para el mantenimiento de la integridad de la estructura en red del peptidoglicano (10). Las enzimas encargadas de catalizar dicha transpeptidación y blanco de los β -lactámicos son las denominadas PBPs ("*penicillin-binding proteins*") (10).

Mecanismos de resistencia a β -lactámicos.

Son varios los mecanismos implicados en la resistencia a estos antibióticos: alteración del sitio diana, trastornos de permeabilidad, eflujo activo, e hidrólisis enzimática (β -lactamasas). Dado que este último es el mecanismo más importante en cuanto a su frecuencia, eficacia y repercusiones terapéuticas en bacilos Gram negativos(11), (12) se describirán algunos de sus principales aspectos a continuación.

β -LACTAMASAS.

Como se mencionó previamente, se trata de enzimas de origen bacteriano, capaces de inactivar antibióticos β -lactámicos. Interesantemente, las PBPs y las β -lactamasas (serin β -lactamasas) tienen similitudes tridimensionales a nivel de su sitio activo, por lo que se ha propuesto que las PBPs fuesen las precursoras de las β -lactamasas (7). De hecho, las β -lactamasas son enzimas antiguas, que ya existían mucho antes de que el hombre descubriera los antibióticos (7).

Son múltiples las clasificaciones que pueden utilizarse para ordenarlas:

-En función de la localización de los genes que las codifican: cromosómicas y plasmídicas (12)

Son los genes *bla* “móviles” los que representan la verdadera amenaza para la utilización de los β -lactámicos (7) pueden adquirirse horizontalmente por diferentes vías, pero principalmente a través de la adquisición de plásmidos. En los mecanismos de movilización genética pueden estar involucrados diversos elementos genéticos como transposones y secuencias de inserción, así como integrones y cassettes genéticos (7). De todas formas, esta clasificación ha caído un tanto en desuso porque genes cromosómicos han sido movilizados vía transposones a plásmidos y viceversa (13).

-Según su expresión: constitutivas o inducibles (12).

-Clasificación estructural: una de las clasificaciones más útiles y sencillas es la de Ambler (14) que toma en cuenta la secuencia aminoacídica de las β -lactamasas, para realizar una agrupación estructural en 4 clases (A, B, C y D). Las enzimas de clase A, C y D son serin-enzimas (residuo de serina en el sitio activo), mientras que las de clase B son metalo- β -lactamasas (zinc en el sitio activo) (14).

-Clasificación funcional: otra de las clasificaciones más utilizadas es la propuesta por Bush (15) que a lo largo de los años ha sido revisada en varias oportunidades(16), (17). Esta clasificación toma en cuenta varios aspectos físico-químicos de las enzimas, como su perfil hidrolítico, de inhibición (por clavulánico, EDTA, etc), peso molecular, punto isoeléctrico, agrupándolas inicialmente en 4 grupos funcionales para luego reducirlas a 3, dentro de los cuales se distinguen a su vez subgrupos.

Ambas clasificaciones (estructural y funcional) están correlacionadas (12) como puede apreciarse en la **figura 1** que se muestra a continuación. Actualmente se reconocen al menos 17 grupos funcionales, asociados a las 4 clases moleculares (7).

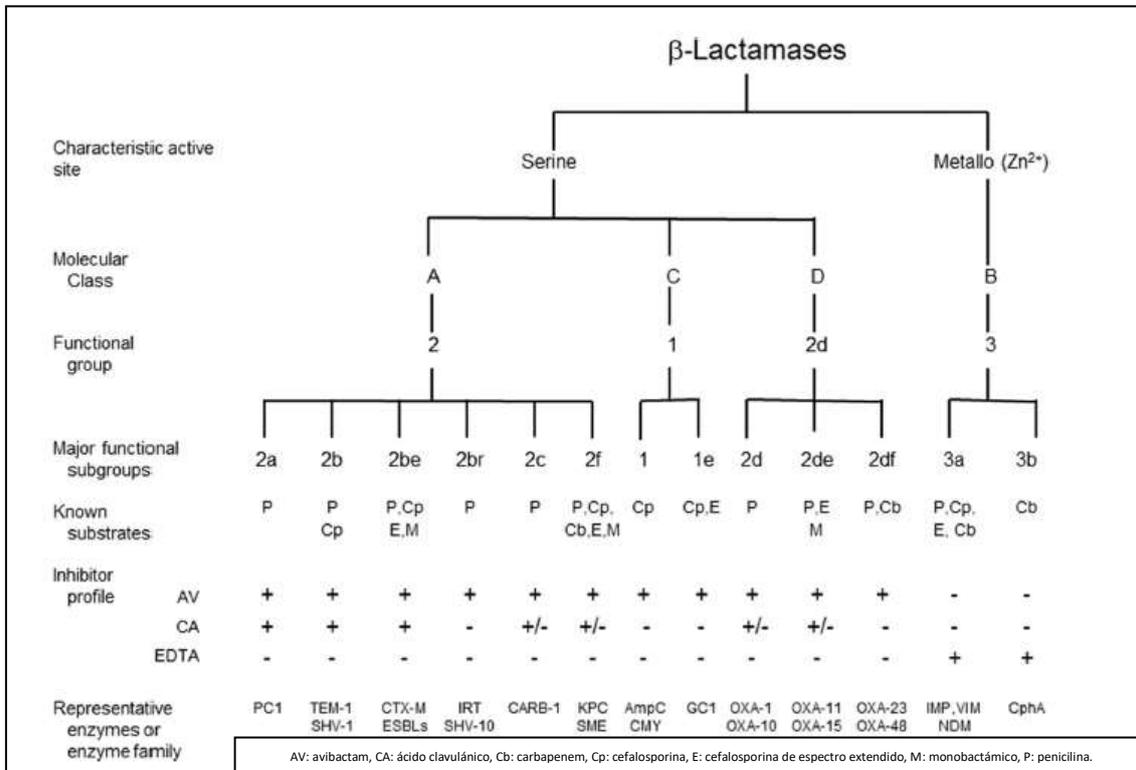


Figura 1: Relaciones moleculares y funcionales entre β-lactamasas.

Tomado de: Bush K. Past and Present Perspectives on β-Lactamases. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2018 (7)

Se describen brevemente a continuación las β-lactamasas de mayor interés clínico (en función de su diseminación y perfil hidrolítico), de acuerdo a la clasificación de Ambler (14) (preferida por su simplicidad) poniendo el énfasis en aquellas responsables de conferir resistencia a oximinocefalosporinas.

β-lactamasas de clase molecular A:

Esta clase de enzimas constituyen un grupo muy amplio de β-lactamasas que incluyen un muy vasto perfil de hidrólisis, abarcando desde las penicilinasas de *S. aureus*, pasando por distintas familias de β-lactamasas de espectro ampliado (BLEA), que confieren resistencia a β-lactámicos de espectro reducido como TEM-1, TEM-2 y SHV-1 hasta llegar hasta las β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y las carbapenemasas de tipo KPC-2 entre otras (7).

Dentro de las responsables de conferir resistencia a oximinocefalosporinas se destacan:

β-lactamasas de espectro extendido - BLEEs.

- La mayoría de las BLEEs pertenecen a esta clase molecular. Están codificadas por genes ubicados en elementos móviles, lo que contribuye a su fácil diseminación, y generalmente asocian co-resistencia a antibióticos de otras familias, como quinolonas, aminoglucósidos y trimetoprima sulfametoxazol (12).

Debido a estas asociaciones, los aislamientos portadores de este tipo de enzimas, presentan frecuentemente perfiles multidrogo-resistentes (MDR). Los aislamientos se definen como MDR cuando son no susceptibles a por lo menos un agente en tres o más categorías de antibióticos (18).

También se observan aislamientos que producen simultáneamente más de una BLEE, y/o β -lactamasas de otras clases moleculares (7).

-Perfil hidrolítico y de inhibición:

Confieren resistencia a amino, carboxi y ureidopenicilinas, oximinocefalosporinas (cefotaxime, ceftriaxona, ceftazidime, cefepime) y aztreonam.

Son inhibibles tanto por inhibidores derivados de β -lactámicos como el ácido clavulánico, como por los nuevos inhibidores del tipo avibactam.

Se mantiene sensibilidad a cefamicinas (cefoxitin) y a carbapenems (salvo que asocien otros mecanismos de resistencia, como impermeabilidad) (12).

- Clásicamente se dividen en aquellas derivadas de enzimas de menor espectro (BLEA como SHV, y TEM y las denominadas “nacidas BLEE” como son la familia de CTX-M o PER (19).

BLEEs derivadas de BLEAs.

Como ya se mencionó derivan de enzimas de menor espectro, a partir de mutaciones puntuales, que les permite ampliar su perfil hidrolítico a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y monobactámicos. Generalmente tienen una mayor actividad frente a ceftazidime que cefotaxime (12).

Históricamente y en conjunto constituyen las primeras BLEE detectadas, proviniendo la primera BLEE derivada de TEM de un aislamiento de *Klebsiella oxytoca* resistente a ceftazidime obtenido en 1982 en Inglaterra y la primera derivada de SHV en 1983 en Alemania en un aislamiento de *Klebsiella ozonae* (19).

Ambos tipos de BLEE han sido relacionadas a numerosos brotes a nivel mundial. Son representativas de estos grupos, dentro de las SHV: SHV-2, SHV-3, SHV-5, SHV-12, SHV-115 (20).

Mientras que dentro de las TEM, destacan TEM-3, TEM-10, TEM-24 (12) Entre estas dos familias se describen más de 400 variantes alélicas de β -lactamasas (12), (20), (21), (22).

Hasta mediados de la década de los 90's las BLEEs tipo SHV eran las más frecuentemente reportadas, aunque en la actualidad han sido desplazadas por las de tipo CTX-M (7), (19).

BLEEs del grupo CTX-M: Como ya se ha mencionado, estas constituyen la principal familia y sub familias de BLEE reportadas a nivel mundial.

La familia debe su nombre al primer reporte de CTX-M-1 ("*CefoTaXimase Munich*") y MEN-1, ambas con igual secuencia y encontradas en forma independiente en Alemania y Francia. Si bien *bla*_{CTX-M-1/MEN-1} fueron los primeros genes *bla*_{CTX-M} secuenciados, probablemente la primer enzima tipo CTX-M identificada sea FEC-1 reportada por Matsumoto et al con hidrólisis aumentada sobre cefotaxime respecto a ceftazidime (19).

A diferencia de las anteriores BLEEs, éstas no surgieron a partir de mutaciones de β -lactamasas plasmídicas previas, sino que su origen se encuentra en β -lactamasas cromosómicas del género *Kluyvera*, cuyos genes fueron incorporados en elementos genéticos móviles (12), (13).

Si bien los primeros aislamientos productores de CTX-M se reportaron a finales de los '80s, el aumento en su reporte comenzó a observarse luego de que CLSI (antes NCCLS) cambiara las recomendaciones para la detección de BLEEs, dado que inicialmente solo se incluía ceftazidime en los tests confirmatorios y no fue hasta que se recomendó incluir tanto ceftazidime como cefotaxime cuando mejoró la detección de estas enzimas (19).

Los microorganismos productores de CTX-M típicamente presentan valores elevados de CIM para cefotaxime/ceftriaxona, mientras que solo algunas variantes son eficientes hidrolizando ceftazidime (19).

Este tipo de enzimas se encuentran presentes tanto en patógenos intrahospitalarios como comunitarios, principalmente *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *E. cloacae*, *M. morgani* y otras enterobacterias, pero también en bacilos Gram negativos oxidasa positivos como *P. aeruginosa* y *Aeromonas spp* (19).

En general, la transferencia horizontal de las enzimas CTX-M es mediada a nivel inter celular por plásmidos conjugativos, mientras que a nivel inter molecular mediada por transposones y/o integrones (23).

Hasta el momento se describen más de 250 variantes alélicas de acuerdo a la base de datos <http://bldb.eu/BLDB.php?prot=A>, y teniendo en cuenta la identidad en sus secuencias se describen 6 grupos dentro de la familia, que se denominan en función del número de la primera enzima detectada en el mismo (13), (21) como se muestra en la **tabla 2** a continuación.

Tabla 2: Grupos dentro de la familia CTX-M.

GRUPO	Enzima tipo	Otros ejemplos dentro del grupo
1	CTX-M-1	CTX-M-3, CTX-M-15 , -10, -12, -22, -23, -28, -30, -32, -34, -36, -37, -42, -52, -55, -57, -58, -60, -62, -64, -66, -68, -69, -71, -73, 79, -80, -82
2	CTX-M-2	CTX-M-44, -4, -5, -6, -31, -7, -20, -35, -43, -56, -59, -74, -77
8	CTX-M-8	CTX-M-40, -41
9	CTX-M-9	CTX-M-14 , -13, -16, -19, -21, -24, -27, -38, -46, -51, -65, -67, -81, 83, -87
25	CTX-M-25	CTX-M-26, -39, -89, -91, -78.
151	CTX-M-151	CTX-M-151

Adaptado de: Cantón R et al, CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion. *Front Microbiol.* 2012 (13)

-Cluster de CTXM-1: CTX-M-1, CTX-M -3, CTX-M -15 son enzimas representativas de este cluster muy diseminadas y responsables de brotes en varios países (19). Merece destacarse que CTX-M -15 es capaz de aumentar significativamente la CIM a ceftazidime (unas 8 veces) (19).

-Cluster de CTX-M-2: CTX-M-2 inicialmente detectada en aislamientos de *Salmonella spp* resistentes a cefotaxime en Argentina, es una enzima típica de América del Sur, asociada tanto al ámbito nosocomial como comunitario (19).

-Cluster de CTX-M-8: tiene pocos representantes, siendo CTX-M-8 la primera descrita (19).

-Cluster de CTX-M-9: es el segundo mayor *cluster*, siendo CTX-M-9 la primer representante (*E.coli* 1996). Las enzimas de este *cluster* comenzaron a reportarse con mayor frecuencia a partir de fines de los '90s (19). La otra enzima de éste grupo ampliamente diseminada es CTX-M-14, reportándose en todos los continentes (19).

-Cluster de CTX-M-25: CTX-M-25 y CTX-M-26 fueron las primeras descritas de este grupo (19).

-Cluster CTX-M-151: recientemente, un nuevo *cluster* fue descrito a partir de un aislamiento de *Salmonella Choleraesuis* en Japón (24).

Se pueden describir tres períodos diferentes en las enzimas CTX-M (13):

Primer período; desde su descripción a finales de los '80, hasta mediados de los años '90, de emergencia de las diferentes enzimas en diversas áreas geográficas(13).

Segundo período; entre 1994-2000, que se caracterizó por la emergencia de las enzimas más diseminadas, incluyendo CTX-M-3, CTX-M-9, CTX-M-14, CTX-M-15(13).

Tercer período; a partir del año 2000, caracterizado por la dispersión universal y globalización de este tipo de β -lactamasas (13).

Mas allá de las descritas existe un amplio grupo de BLEEs menos prevalentes donde se encuentran algunas como las derivadas de PER, VEB (VEB-1 a VEB-7), GES, etc e incluso algunas que presentan la doble capacidad de tener el perfil de BLEE y ser resistentes a los inhibidores derivados de β -lactámicos como lo son TEM de mecanismo complejo (*Complex Mechanism TEM β -lactamases*: CMT) (12), (17). Dentro de estas describiremos brevemente las derivadas de PER por tener demostrada importancia epidemiológica, tanto a nivel local como regional.

β -lactamasas PER:

Las más prevalentes dentro de esta familia son PER-1 y PER-2. PER-1 se describió en 1991 en *P. aeruginosa* ("*Pseudomonas Extended Resistance*"), pero también se ha reportado en enterobacterias confiriendo resistencia a oximinocefalosporinas (19).PER-2 comparte el 86 % de la identidad de su secuencia aminoacídica con PER-1 y también se ha reportado en aislamientos clínicos de enterobacterias en diversos países, especialmente en Latinoamérica, incluyendo Argentina y Uruguay (19).

Carbapenemasas: un conjunto importante de enzimas que confieren resistencia a oximinocefalosporinas como parte de su espectro hidrolítico las constituyen las carbapenemasas. En forma preocupante, la mortalidad por microorganismos productores de este tipo de enzimas es elevada, y la diseminación de los genes que las codifican puede ser tanto via expansión clonal o transferencia horizontal de genes (25).

Estas β -lactamasas capaces de inactivar carbapenems, se asocian en enterobacterias a elementos genéticos transferibles y pertenecen a las clases moleculares A, B o D de Ambler (12).

Dentro de las de clase A la familia más significativa es la familia de KPC (19):

KPC - “*K. pneumoniae carbapenemase*”:

KPC fue por primera vez reportada en 2001 en *K. pneumoniae*, aislada en EEUU en Carolina del Norte, para poco después comenzar a reportarse en todo el país y el mundo, y no solamente asociada a diversas enterobacterias sino también no fermentadores como *Pseudomonas spp* y *Acinetobacter spp* (19).

K. pneumoniae es la principal especie productora de KPC, describiéndose al menos 24 alelos del gen *bla*_{KPC}, (26) siendo KPC-2 y KPC-3 las variantes más comunes en aislamientos clínicos, y KPC-2 la predominante a nivel mundial (26).

Dentro de esta clase de carbapenemasas también se pueden encontrar las de tipo GES: Si bien la habilidad para inactivar carbapenems no es una característica común a todas estas enzimas; algunas variantes como GES-2, GES-4, GES-5, GES-6 y GES-11 sí tienen esta capacidad (19). De todas formas, la importancia epidemiológica de estas enzimas es mucho menor a la de las carbapenemasas de tipo KPC (12).

Perfil fenotípico:

-Eficiente hidrólisis de penicilinas, cefalosporinas y carbapenems (12).

-No inhibición por ácido clavulánico, cloxacilina ni EDTA (12).

-Inhibibles por ácido borónico (12) y los nuevos inhibidores como avibactam.

Dentro de las carbapenemasas de clase A, existe un grupo reducido de enzimas que confieren resistencia a carbapenems pero no a cefalosporinas, como son las derivadas de SME, NMC-A e IMI son enzimas de codificación cromosómica, y salvo excepciones (IMI-2) sus genes no se han encontrado asociados a elementos genéticos móviles (19).

β-lactamasas de clase molecular C:

β-lactamasas de tipo AmpC.

Estas enzimas pueden localizarse a nivel cromosómico o en plásmidos. Su expresión puede ser constitutiva o inducible. La cantidad de enzima producida puede ser basal baja (fenotipo de resistencia natural característica de la especie considerada) o alta (hiperproducción de AmpC), por diferentes mecanismos (12).

La presencia de AmpC cromosómica, inducible o constitutiva, se encuentra presente en especies como *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*. El grado de expresión de *bla*_{ampC} está influenciado por la acción de genes reguladores del tipo *ampD* o *ampR* (12).

Perfil fenotípico:

Perfil de hidrólisis:

Son cefalosporinas con hidrólisis de cefalosporinas de primera y segunda generación, y dependiendo de sus niveles de expresión de tercera generación (12).

También hidrólisis sobre cefamicinas. La resistencia a ceftioxitin un marcador útil para diferenciar la producción de AmpC de la de BLEE. Los aislamientos productores de BLEE suelen mantener la sensibilidad a ceftioxitina, salvo que exista simultáneamente un trastorno de permeabilidad (12).

Poco eficientes para hidrólisis de cefalosporinas de cuarta generación y carbapenems (12).

Perfil de inhibición:

Inhibibles por cloxacilina y ácido borónico y sus derivados (ácido fenil-borónico) así como por avibactam (12).

No inhibibles por IBLs como clavulánico (12).

AmpC plasmídicas.

En este caso los genes *bla_{ampC}* pueden encontrarse asociados a integrones o transposones localizados en plásmidos conjugativos. Su origen se encuentra en sus contrapartidas cromosómicas, presentes en diversas especies bacterianas (*C. freundii*, *M. morganii*, *Hafnia alvei*, *Aeromonas caviae*, etc) (12). Las primeras AmpC plasmídicas fueron reportadas en la década de los 80 (27) y generaron interés clínico en función de su capacidad para movilizarse horizontalmente.

Se describen varios linajes para estos genes movilizables, según su origen en bacterias naturalmente portadoras: *Enterobacter spp* (MIR, ACT), grupo *C. freundii* (CMY-2-like LAT, CFE), grupo *M. morganii* (DHA), grupo *Hafnia alvei* (ACC), grupo *Aeromonas* (CMY-1-like, FOX, MOX) y grupo *Acinetobacter baumannii* (ADC). De todos estos tipos, las enzimas AmpC plasmídicas más prevalentes y globalmente diseminadas corresponde al tipo CMY-2-like (27).

Detección fenotípica de β -lactamasas tipo AmpC plasmídicas.

Estas consideraciones solo aplican a enterobacterias que no presentan AmpC cromosómica inducible, como *Klebsiella spp*, *Citrobacter koseri*, *P. mirabilis*, *Salmonella spp*, *E. coli* (ésta última posee una AmpC cromosómica no inducible, que habitualmente no se expresa) (12).

Ante un perfil compatible con AmpC (ver más arriba) pueden realizarse pruebas de sinergia de doble disco o utilización de discos combinados, que pongan en evidencia la propiedad de inhibición por cloxacilina o ácido fenil-borónico, utilizando como indicadores ceftazidime, cefotaxime y ceftioxitin (12).

Ante la coexistencia de otros mecanismos de resistencia a β -lactámicos la interpretación de los perfiles y pruebas fenotípicas se hace más dificultosa. Como siempre los métodos moleculares son los que se consideran como confirmatorios (12).

AmpC de espectro extendido.

Al perfil característico de AmpC le agregan capacidad de hidrólisis sobre cefalosporinas de cuarta generación (12).

β-lactamasas de clase molecular D:

Interesantemente se considera la clase más diversa entre las β-lactamasas (actualmente se encuentran registradas más de 1100 variantes alélicas dentro de la familia OXA en la base de datos <http://bldp.eu/BLDB.php?prot=D>), dado que algunos de sus miembros comparten solo un 20% en su identidad y dicha diversidad también se manifiesta en sus propiedades bioquímicas; pudiendo encontrarse enzimas de amplio espectro, espectro extendido y carbapenemasas dentro de la familia (19).

De un modo similar a lo que ocurre con las de clase A, se encuentran dentro de esta familia β-lactamasas de espectro ampliado, BLEE y carbapenemasas.

Son ejemplos de las primeras, OXA-1 y OXA-2 y enzimas relacionadas como OXA-31 -47 OXA-3, OXA -21, OXA -34, OXA -36, OXA -53, OXA -56 (19).

Dentro de las segundas, se destacan variantes de OXA-2 como OXA-15, OXA-32, y variantes de OXA-10 como OXA-7, OXA-11, OXA -13, OXA -14, OXA- 16, OXA-17, OXA-19. La mayoría han sido recuperadas en *P. aeruginosa*(19).

Finalmente, dentro las carbapenemasas de clase molecular D, se encuentran enzimas cuya presencia se haya muy extendida en *Acinetobacter spp* (OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-143, OXA-151), mientras que otras son mucho más frecuentes en enterobacterias, como OXA-48 (mayoritariamente en *E. coli* y *K. pneumoniae*)(12).

Algunas son enzimas de codificación cromosómica (como OXA-50, OXA-55, OXA-60, OXA-62) y para otras también se ha descrito codificación plasmídica (como OXA-48) (19).

Una característica destacable para este tipo de enzimas es su falta de inhibición por clavulánico, sulbactam y tazobactam, si bien hay excepciones (OXA-18 recuperada a partir de *P. aeruginosa* muestra fuerte inhibición con ácido clavulánico) (19).

Como ya se ha comentado OXA-48 es inhibible por inhibidores no derivados de beta lactámicos como avibactam.

β-lactamasas de clase molecular B:

Las metalo β-lactamasas constituyen una familia diversa de enzimas que se caracterizan por:

-Su habilidad para hidrolizar un amplio espectro de β-lactámicos; penicilinas, cefalosporinas y carbapenems, pero no monobactámicos (19).

-El requerimiento de uno o dos iones de zinc para ser activas, lo que las hace susceptibles a los quelantes de iones metálicos como EDTA y ácido dipicolínico (19).

-Algunas son de codificación cromosómica (las primeras fueron descritas en microorganismos ambientales u oportunistas: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Shewanella spp*, etc), pero las más preocupantes en función de su importante diseminación son las transferibles, asociadas a integrones en elementos genéticos móviles (19).

Se encuentran tanto en no fermentadores como *Pseudomonas spp*, como en enterobacterias (12).

-Perfil fenotípico:

Hidrólisis y resistencia a todos los antibióticos β -lactámicos, a excepción de aztreonam(12).

Inhibición por agentes quelantes de cationes divalentes EDTA, ácido 2-mercaptopropiónico, o ácido dipicolínico (12).

No inhibibles por inhibidores clásicos de β -lactamasas como ácido clavulánico(12), ni por los nuevos como avibactam.

-Algunas enzimas de metalcarbapenemasas más relevantes son:

-VIM-1, VIM-2 y variantes derivadas: detectada por primera vez en Verona, Italia, 1997, en aislamiento de *P. aeruginosa* (12). Son enzimas muy prevalentes en Europa (19) muy difundidas en *P. aeruginosa* (sobre todo la variante VIM-2), pero también se han encontrado en *A. baumannii* y enterobacterias.

-NDM-1 (Nueva Delhi Metalcarbapenemasa) y enzimas derivadas: el primer aislamiento con NDM-1 reportado en Europa en 2007, correspondió a *K. pneumoniae* recuperada en Suecia, a partir de un paciente que provenía de India (Nueva Delhi) (28). Desde su descripción inicial NDM-1 y sus variantes han tenido una diseminación explosiva en todo el mundo, y se han reportado en enterobacterias incluyendo clones epidémicos como *K. pneumoniae* ST 147, ST 11, y ST 14, *E.coli* ST 131 y ST 405 (28), y en bacilos no fermentadores (19).

Otras metalcarbapenemasas: IMP-1, SPM-1 (San Pablo Metal β -lactamasa), GIM-1 (German IMipenemase), SIM-1 (Seoul IMipenemase), KHM-1, AIM-1, DIM-1 (19).

Teniendo en cuenta la importancia de las BLEE como mecanismos de resistencia a las oximinocefalosporinas, motivo por el cual es un tema central dentro de esta tesis, a continuación, se describirán los principales aspectos diagnósticos y epidemiológicos:

DETECCIÓN DE LAS BLEEs DESDE EL LABORATORIO:

Con tantas enzimas en juego ¿cómo detectarlas?

i)Métodos fenotípicos:

La detección por estos métodos depende de la expresión fenotípica de la enzima, que depende a su vez de la cantidad de enzima producida y así mismo, de la existencia de otros mecanismos de resistencia presentes (12).

Son sugestivos de producción de BLEE:

-Resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación, y monobactámicos.

-Sensibilidad a cefoxitin y carbapenems.

-Evidencia de inhibición por ácido clavulánico utilizando como indicadores cefalosporinas de tercera y cuarta generación y aztreonam (prueba de sinergia de doble disco, uso de discos combinados, técnicas de difusión en gradiente con tiras combinadas, técnicas de microdilución) (12).

En el caso de microorganismos que producen simultáneamente una β -lactamasa de tipo AmpC (cromosómica o plasmídica) los métodos mencionados pueden modificarse (inclusión de cefepime, adición de cloxacilina al medio de cultivo o los discos) para permitir la detección de BLEE (12).

Breve explicación de los tests fenotípicos utilizados en el laboratorio para confirmación de la producción de BLEE:

Prueba de sinergia de doble disco: se basa en la colocación estratégica de un disco de amoxicilina-clavulánico próximo a discos de cefotaxime y ceftazidime. La presencia de BLEE se evidencia por el agrandamiento del halo de inhibición de cualquiera de los indicadores (21), (27). Como se mencionó previamente, en el caso de enterobacterias portadoras de AmpC cromosómica inducible (*Enterobacter spp*, *Citrobacter freundii*, *Serratia spp*, *Morganella spp*) es conveniente incluir cefepime (21), (27).

Prueba de discos combinados: consiste en comparar los halos de inhibición de cefotaxime y ceftazidime versus los halos de dichos antibióticos cuando están en combinación, en el mismo disco, junto a ácido clavulánico. Cuando en presencia del inhibidor el halo observado es ≥ 5 mm mayor, se considera el resultado positivo para la producción de BLEE. Esta metodología es recomendada tanto por CLSI (29) para detección de BLEE en *K.pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* y *P. mirabilis*, como por EUCAST (27).

Técnicas de difusión en gradiente con tiras combinadas: se basan en el mismo principio de inhibición por clavulánico que en el caso de los discos combinados, pero en este caso se comparan valores de CIMs obtenidas mediante el uso de tiras que presentan en un extremo un gradiente de concentración de cefotaxime, ceftazidime o cefepime y en el otro un gradiente de la misma cefalosporina con una concentración fija de ácido clavulánico. La prueba se considera positiva cuando en presencia de ácido clavulánico la CIM de cualquiera de las cefalosporinas disminuye en por lo menos 3 diluciones(12), (27).

Técnicas basadas en la microdilución en caldo: en este caso las CIMs de cefotaxime y ceftazidime solas y en presencia de ácido clavulánico se determinan mediante microdilución en caldo. El test es positivo para producción de BLEE cuando se observa una disminución de la CIM de la cefalosporina indicadora en al menos 3 diluciones en presencia de ácido clavulánico. Esta metodología aparece recomendada tanto por CLSI(29) como por EUCAST (27). Algunos equipos

automatizados utilizados para ensayos de susceptibilidad (como Vitek 2 system®) para se basan en esta técnica para la investigación de la producción de BLEE (12).

Otras estrategias: si bien no se consideran como metodologías para la confirmación de la producción de BLEE, los tests bioquímicos y los medios cromogénicos pueden servir para una sospecha inicial y presuntiva de la presencia de este tipo de enzimas.

Tests bioquímicos (colorimétricos): con respecto a estos tests EUCAST en su documento “EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance” (27) menciona ESBL NDP y BLACTA™

El test “ESBL NDP”, descrito en 2012, utiliza cefotaxime como antibiótico indicador y tazobactam como inhibidor, considerándose como un resultado positivo el cambio de color rojo a amarillo (27).

Por otro lado, el test comercial colorimétrico cualitativo “BLACTA™ test” (BIO-RAD) permite detectar resistencia a cefalosporinas de tercera generación en enterobacterias mediada por β -lactamasas BLEE, AmpC (desreprimida o plasmídica) y carbapenemasas, tanto metalo como tipo KPC, pero sin llegar a diferenciar entre ellas. El test utiliza una cefalosporina cromogénica y puede realizarse tanto a partir de colonias frescas como a partir de pellets obtenidos de urocultivos o hemocultivos (27).

Medios cromogénicos: también están disponibles en forma comercial medios cromogénicos (ChromID ESBL - bioMérieux, Brilliance ESBL agar – Oxoid, etc), para el aislamiento selectivo e identificación presuntiva de enterobacterias productoras de BLEE(12).

Limitaciones de los métodos fenotípicos para la detección de BLEEs:

Se relacionan fundamentalmente con la presencia (o coexistencia) de otras enzimas u otros mecanismos de resistencia simultáneos (ej: trastornos de permeabilidad) con fenotipos no puros (12). Por ejemplo, la hiperproducción de β -lactamasas cromosómicas de clase A, pueden generar un perfil fenotípico similar al de BLEEs, como hiperproducción de SHV-1 en *K. pneumoniae*, K1 en *K. oxytoca*, o de la cefalosporinasa cromosómica (CepA) de *P. vulgaris* o *P. penneri* (12), (27).

Así mismo, la hiperproducción de β -lactamasas como SHV-1-, TEM-1- u OXA-1-like, en combinación con trastornos de permeabilidad, puede también llevar a un resultado falso positivo (27).

En cuanto a resultados falso negativos, debe tenerse en cuenta:

-La coproducción de β -lactamasas de tipo AmpC puede dificultar el reconocimiento de las BLEEs como ya fue mencionado anteriormente y debe ser tenido en cuenta (27).

-Algunas oxacilinasas (grupo funcional 2de) con perfil BLEE presentan una inhibición débil o variable por clavulánico, por lo que no pueden ser confiablemente detectadas por las metodologías previamente descritas (12).

-La presencia de carbapenemasas (tanto clase A como clase B) pueden “enmascarar” la presencia de BLEE, y si interesa reconocerlas en este contexto se hace fundamental la aplicación de técnicas moleculares (27) .

ii) Confirmación genotípica.

Puede realizarse mediante técnicas de PCR (tanto caseras o comerciales) y secuenciación como a través de secuenciación de genoma completo y posterior análisis de los genes de resistencia (27).

INFORME DEL PERFIL SE SUSCEPTIBILIDAD EN ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE.

Aún en presencia de BLEE, alguna de las cefalosporinas o aztreonam pueden mostrarse sensibles en las pruebas in vitro, dado que el grado de hidrólisis puede variar en función del tipo y la cantidad de enzima producida, así como de la presencia o no de otros mecanismos de resistencia frente a tales antibióticos. Hasta el año 2009, las guías CLSI (30) recomendaban que en presencia de BLEE, e independientemente de los resultados obtenidos in vitro, se informasen como resistentes las penicilinas, cefalosporinas y aztreonam. En enero del 2010 y tras la evaluación de propiedades PK/PD, datos clínicos y distribuciones de CIM, se modificaron los puntos de quiebre para cefalosporinas (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxona, cefazolina y ceftizoxime) y aztreonam, y con la aplicación de los mismos, CLSI (31) afirma que ya no sería necesario editar los resultados obtenidos, aunque la investigación para la producción de BLEEs puede seguirse realizando con fines epidemiológicos y/o para el control de infecciones.

De esta forma, se modificó la estrategia para el informe de resultados; en lugar de basarse en el mecanismo de resistencia, pasó a fundamentarse en el valor de la CIM (con independencia del mecanismo de resistencia). La misma recomendación se encuentra en las guías EUCAST(32).

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS BLEES:

Evolución de la prevalencia de las BLEEs:

Ya se mencionó anteriormente que las enzimas clase molecular A son las más diseminadas. En los inicios de la década de los 80 comenzaron en Europa los primeros reportes de aislamientos de enterobacterias productoras de BLEE (derivadas de SHV y posteriormente de TEM) (12).

Estas BLEEs eran las predominantes en los '80s y '90s, principalmente asociadas con brotes hospitalarios, involucrando a *K. pneumoniae* y en menor medida a *E. coli* y otras enterobacterias (13).

A finales de los 80's se describe la nueva familia de CTX-M, que rápidamente se disemina entre los diferentes géneros de enterobacterias y países a lo largo de la década de los 90, convirtiéndose a partir del 2000 en el tipo de BLEE más prevalente en la mayor parte del mundo, sustituyendo prácticamente a las enzimas derivadas de TEM y SHV (12).

La diseminación de las enzimas CTX-M se trata de un fenómeno mundial, que incluso se ha denominado como “pandemia CTX-M”(13). Esta alta prevalencia podría explicarse por la diseminación de los genes *bla*_{CTX-M} en plataformas genéticas altamente movilizables (plásmidos y transposones), y por la diseminación de dichas plataformas en clones exitosos (13). Así mismo, también podría relacionarse con el fenómeno de co-resistencia en los microorganismos productores de CTX-M; (especialmente con resistencia a aminoglucósidos y fluoroquinolonas), lo que facilitaría el proceso de coselección (13).

Dentro de las enzimas CTX-M, CTX-M-15 y CTX-M-14 son actualmente las más importantes, tanto a nivel ambiental, animal como humano (13).

¿Y qué pasa con las BLEEs fuera del ámbito hospitalario?

Un aspecto epidemiológico clave de las CTX-M es que pueden encontrarse en aislamientos de enterobacterias colonizantes de individuos sin condiciones médicas previas, exposición a antibióticos o contacto previo con los sistemas de salud (33). Este reservorio comunitario alimentaría constantemente un flujo de BLEEs hacia el hospital (33). En Europa, 5-15% de los pacientes críticos se encuentran ya colonizados por enterobacterias productoras de BLEE al momento de su ingreso en cuidados intensivos (33), mientras que en nuestro país estas cifras ascienden a un 20% (34).

La colonización fecal por enterobacterias BLEE a nivel comunitario se estima en el 14% a nivel global, (Europa 4% y América del Norte 2%) (35).

Fuera del ámbito hospitalario, los centros de cuidados a largo plazo (como hogares para ancianos) representan un reservorio de aislamientos BLEE. Esto tiene que ver con las características de los individuos que residen en ellos (presencia de múltiples comorbilidades, edad avanzada, etc), el frecuente uso de biodispositivos médicos (como sonda vesical), sobreindicación de antibióticos, entre algunos de los factores favorecedores (36). En cuanto a la prevalencia de este tipo de aislamientos en centros de cuidados a largo plazo, fue del 10-60% en Europa, y cercano al 50% en China (37).

Otros factores que se han reportado involucrados en la prevalencia de BLEEs en la comunidad son: consumo previo de antibióticos (como favorecedor de la colonización por estos microorganismos), uso masivo de antibióticos en veterinaria y en producción de animales para el consumo humano, contaminación de ambientes urbanos por aguas residuales, y viajes internacionales (38), (39).

BLEEs - Panorama mundial:

Como ya se mencionó, la Organización Mundial de la Salud prioriza las enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación como uno de los patógenos preocupantes (prioridad 1: críticos) a nivel de salud pública, teniendo en cuenta aspectos como la mortalidad asociada, los costos sanitarios, la carga a nivel comunitario y nosocomial, la tratabilidad, así como la facilidad de los genes *bla* para diseminarse, lo que facilita el rápido aumento en la

prevalencia de estos aislamientos no solamente a nivel nosocomial sino también a nivel de la comunidad (2).

Asistimos a una diseminación mundial de BLEEs tipo CTX-M, particularmente diseminación de *bla*_{CTX-M-15}, tanto en infecciones comunitarias por *E. coli* como nosocomiales por *Klebsiella spp* (37).

Si bien algunas de las enzimas CTX-M clásicamente se han descrito asociadas a países o zonas geográficas específicas, como CTX-M-9 y CTX-M-14 en España, CTX-M-1 en Italia, CTX-M-2 en Israel, Japón y Latinoamérica; CTX-M-15 ha emergido mundialmente, transformándose en la enzima más cosmopolita dentro de la familia (40).

La diseminación de *bla*_{CTX-M-15} parece relacionarse con algunos clones particularmente virulentos y exitosos de *E. coli* (como ST131) y algunos plásmidos como IncFII (37).

Así, *bla*_{CTX-M-15} es el determinante BLEE más prevalente a nivel mundial. Por su parte *bla*_{CTX-M-14} es muy frecuente en ciertas regiones de Europa, como España, así como a nivel del Este y Sureste Asiático (37).

Como se mencionó anteriormente, y lo que complica más la terapéutica, es que los clones portadores de *bla*_{CTX-M} cargan con frecuencia múltiples determinantes de resistencia, que afectan otros grupos antibióticos, como fluoroquinolonas, aminoglucósidos y trimetoprim-sulfametoxazol (37).

BLEEs a nivel regional y local:

Latinoamérica: Según la revisión de Guzmán-Blanco M et. al (41) las tasas de **infecciones nosocomiales** por enterobacterias BLEE en Latinoamérica viene en aumento desde 2005: describiéndose que hasta el 32% de los aislamientos *E. coli* y hasta el 58% de los aislamientos de *K. pneumoniae* producen este tipo de enzimas, si bien hay variaciones geográficas regionales.

Ya desde finales de los '90s los aislamientos de enterobacterias productores de BLEE se describen como endémicos en Latinoamérica. Según el estudio de vigilancia SENTRY (1997-2002) la prevalencia de *K. pneumoniae* BLEE en bacteriemias de pacientes hospitalizados fue del 43%. Esta prevalencia resultó diferente, en forma estadísticamente significativa respecto a la reportada para Europa (22%) y América del Norte (6%), $p < 0.001$ (41).

Además del aumento progresivo de la prevalencia de aislamientos productores BLEE se observó el mismo fenómeno, previamente mencionado, de remplazo del tipo de BLEEs predominantes: aumento de enzimas de tipo CTX-M sobre las de tipo SHV y TEM (41) estando esta rápida diseminación de enzimas CTX-M facilitada por la transferencia horizontal de plásmidos y clones exitosos (41). Si bien las BLEEs predominan en *K. pneumoniae* y en segundo lugar en *E. coli*, también se reporta en una amplia variedad de enterobacterias, como *Proteus spp*, *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Morganella spp* y *Salmonella spp* (41).

De acuerdo a los datos de vigilancia para la **primera década del 2000**, ya se mencionó el predominio de CTX-M-15 en el norte del continente (recordando que se trata de una enzima

que tiene una marcada capacidad para hidrolizar también ceftazidime), mientras que CTX-M-2 se reportaba como la más prevalente en Argentina (seguida de CTX-M-15, CTX-M-8 y CTX-M-9) (41). En cuanto a co-resistencia; estos aislamientos BLEE mostraban un perfil de MDR, dejando carbapenems, tigeciclina y colistin como los únicos antibióticos con tasas de susceptibilidad del > 90% (41).

Sin embargo, en la **segunda década del 2000**, se reporta un cambio en la prevalencia relativa de las enzimas CTX-M, especialmente en el Cono Sur, desde un predominio de CTX-M-2 a CTX-M-15 y CTX-M-14, acompañado de la detección de genes que median la resistencia transferible a quinolonas (*TMQR*) (42), (43), (44), (45).

BLEEs en Uruguay:

En nuestro país, la vigilancia de las Infecciones Hospitalarias se realiza a través de la notificación al Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Hospitalarias (SNV-IH). La Unidad de Control de Infecciones (UCIH) del Ministerio de Salud Pública (MSP), recibe notificaciones de prestadores de salud de todo el país, de las infecciones hospitalarias en áreas de cuidados intensivos de adultos, pediátricos y neonatal, infecciones de sitio quirúrgico y las situaciones de brote. Según datos del Ministerio de Salud, para el 2009 *K. pneumoniae* y *E. coli* fueron las principales enterobacterias asociadas las infecciones hospitalarias, y el porcentaje de resistencia a ceftriaxona en *K. pneumoniae* se situaba ya en el 54.2% (n=166), mientras que para *E. coli* fue del 16.3% (n=92) (46); información disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/tematica/infecciones-asociadas-atencion-salud?page=2>. De acuerdo al MSP, las infecciones hospitalarias causadas por bacilos Gram negativos son un problema creciente y en enterobacterias, el mecanismo de resistencia más común es la producción de BLEEs (5).

Al igual que lo reportado en Europa y el resto de Latinoamérica, en Uruguay predominan las BLEEs de la familia CTX-M: *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CTX-M-14}, *bla*_{CTX-M-9}, *bla*_{CTX-M-8}, seguidas por el grupo SHV: *bla*_{SHV-2}, *bla*_{SHV-5}, *bla*_{SHV12} y PER-2, (34), (43), (44).

Se encuentra ya reportado el cambio epidemiológico en la prevalencia de las BLEE, desde un predominio de CTX-M-2 y PER-2 hasta el año 2006 que se sustituye por CTX-M-15 y en menor medida CTX-M-14 (34).

La diseminación de estas dos enzimas parece seguir modelos diferentes; mientras que CTX-M-15 se disemina a través de clones exitosos como *K. pneumoniae* ST 258 y *E. coli* ST 131 y ST 405, las CTX-M-14 se relacionan con diseminación de plásmidos con alta eficiencia conjugativa.

El aumento en la detección de CTX-M-15 podría explicarse por su asociación con otros genes de resistencia, como *aac(6′)-Ib-cr* o *qnr* (34),(47), lo que podría favorecer su co-selección frente al uso de antibióticos como ciprofloxacina o amikacina, y el hecho de ser portadas por clones exitosos también podría estar favoreciendo su diseminación. En Uruguay, el primer reporte de la asociación *bla*_{CTX-M-15} y *aac(6′)-Ib-cr* es de Cordeiro NF et al en el año 2006 (colonización rectal en UCI), (47). Como antecedente epidemiológico de interés, se puede mencionar el aumento en la prescripción de quinolonas reportado en toda Latinoamérica (incluido Uruguay) entre 1997 y 2007 (48).

Como ya fue mencionado, recientemente, se ha reportado la carga mundial de la RAM , resaltándose la importancia de *E. coli* y *K. pneumoniae* como dos de los principales microorganismos MDR vinculados a mortalidad mientras que las infecciones del torrente sanguíneo por microorganismos resistentes constituyen el segundo foco vinculado a mortalidad solo superado por infecciones del tracto respiratorio bajo (1).

Adicionalmente, la mortalidad asociada a resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación sobrepasó las 150.000 muertes para el año 2019(1).

HERRAMIENTAS DE EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

Como se mencionó en apartados anteriores, resulta fundamental conocer y vigilar la prevalencia y diseminación de los bacilos MDR y XDR (49), dada la relevancia de las infecciones causadas por estos microorganismos en la práctica clínica. Las técnicas moleculares representan herramientas fundamentales para llevar a cabo dicha vigilancia.

La genotipificación permite estudiar la evolución de los microorganismos patógenos, y conocer sus relaciones genéticas, lo que resulta fundamental en los estudios epidemiológicos.

Son varias las técnicas de tipificación molecular actualmente disponibles para comparar la composición de los ácidos nucleicos en diferentes microorganismos. A través de estas herramientas puede investigarse la relación entre aislamientos de la misma especie microbiológica pudiendo establecerse si derivan de un precursor común o si no están relacionados. Así, los marcadores moleculares pueden permitir definir si existe o no una relación clonal entre aislamientos en estudio, definiéndose como clon o grupo clonal al grupo de aislamientos relacionados por el hecho de descender de un ancestro común, formando parte de una cadena de replicación y transmisión. Las cepas relacionadas provienen de la expansión clonal de un precursor único, y por tanto tienen un grado de similitud genotípico y fenotípico superior al esperable entre aislamientos de la misma especie pero no relacionados (50).

Dentro de los métodos moleculares aplicados al estudio epidemiológico, dos de los más utilizados son: **electroforesis en gel de campo pulsado** (PFGE; “*pulsed-field gel electrophoresis*”) y **MLST** (*Multilocus Sequence Typing*: análisis del ADN por secuenciación).

PFGE: Electroforesis de campo pulsado – fundamento y descripción.

Esta técnica permite estudiar la clonalidad entre aislamientos, pudiendo establecer si se trata de cepas idénticas, probablemente relacionadas, posiblemente relacionadas o distintas, de acuerdo al número de cambios genéticos observados en función de las diferencias entre los patrones obtenidos (50).

La implementación de PFGE en redes internacionales de vigilancia, como *Pulse Net*, con el empleo de protocolos altamente estandarizados, ha resultado fundamental para el estudio y seguimiento de importantes patógenos (*E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp*, etc), y si bien existen otras técnicas más modernas PFGE sigue considerándose como el gold estándar en muchos programas internacionales de vigilancia (50).

Mediante PFGE se analiza el polimorfismo en los tamaños de los fragmentos del ADN cromosómico que se obtienen mediante digestión enzimática, reflejándose en los patrones obtenidos la variabilidad entre los sitios de restricción de la enzima y/o la inserción o deleción de grandes fragmentos de ADN entre dos sitios de restricción (50).

Mediante el estudio del ADN cromosómico, se obtiene una información general sobre el genotipo bacteriano y sus cambios recientes. Sería una técnica discriminativa y reproducible, de sencilla interpretación cuando los microorganismos en estudio corresponden a un período de tiempo corto de estudio. Su principal indicación reside en el estudio de brotes de infección intrahospitalaria. Cabe señalar que este tipo de técnica no detecta cambios puntuales en genes ni permite una observación detallada de elementos genéticos como plásmidos, transposones o secuencias de inserción (50).

Breve descripción: se trata de un análisis del ADN cromosómico mediante macrorrestricción con enzimas de restricción de baja frecuencia de corte, que permiten obtener pocos fragmentos de ADN (entre 10 y 30). Dado que algunos fragmentos obtenidos resultan de gran tamaño (40 kb o más), no pueden separarse por electroforesis convencional, siendo necesario que la orientación del campo eléctrico varíe en forma periódica. De esta forma logran obtenerse patrones con pocas bandas de distintas movilidades electroforéticas (50). Interpretación de los resultados: en el estudio de brotes es de interés determinar si aislamientos relacionados epidemiológicamente también lo están genéticamente. En forma “ideal” los patrones de PFGE de los aislamientos que representan una cepa epidémica deberían ser idénticos y fácilmente diferenciables de los aislamientos no relacionados. Sin embargo debe tenerse en cuenta que pueden eventualmente suceder en el curso de un brote o epidemia cambios genéticos que alteren el patrón de la cepa epidémica, lo que podría dificultar la interpretación de los resultados (50). Básicamente, en función del número de diferencias entre dos patrones los aislamientos pueden clasificarse como (50):

-idénticos: presentan el **mismo** número de bandas, que tienen a su vez el mismo tamaño. En este caso ambos aislamientos representan la misma cepa.

-genéticamente relacionados: el número de diferencias entre los aislamientos en comparación es **menor o igual a 3**. Esto se basa en que un único cambio genético con el resultado más desfavorable, mutación espontánea que afecta un sitio de restricción creando uno nuevo o haciendo desaparecer uno preexistente, genera un máximo de 3 diferencias.

-posiblemente relacionados: existen como **máximo 6 diferencias**, pudiendo atribuirse los cambios encontrados a dos modificaciones genéticas independientes (inserciones, deleciones, ganancia o pérdida de sitios de restricción).

-no relacionados: existen **más de 6 diferencias** entre los patrones, lo que es atribuible a tres o más cambios genéticos independientes. Se considera entonces que las cepas pertenecen a **clones distintos**, sin relación epidemiológica.

Además de esta comparación aislamiento *versus* aislamiento pueden utilizarse sistemas informáticos, capaces de asignar “distancia genética” entre los aislamientos teniendo en cuenta

la diferencia entre los patrones. Uno de los más empleados es el software BioNumerics que ofrece una plataforma para el análisis de los patrones obtenidos.

MLST – Multilocus Sequence Typing – fundamento y explicación.

Esta técnica permite **identificar clones y/o líneas clonales**, siendo aplicable en epidemiología global o a largo plazo, permitiendo la identificación de grupos poblacionales, con independencia de pequeñas variaciones. Está basada en la amplificación y secuenciación específica del ADN de fragmentos internos (450-500 pb) de genes “*housekeeping*”, que codifican enzimas metabólicas, lo que permite la detección de variaciones neutras que definen líneas clonales relativamente estables. Generalmente son regiones específicas de los genes donde reside la variabilidad observada, mientras que el resto del *locus* está altamente conservado. Por tanto el nivel de variabilidad combinado entre los genes analizados brinda un alto grado de discriminación. Al utilizarse secuenciación es posible entonces detectar variantes que impliquen solamente un cambio de una única base en el gen analizado (50).

Se ha definido que el análisis de 7 genes *housekeeping* resulta adecuado para el análisis.

Breve explicación MLST (50):

-Amplificación y posterior secuenciación de los fragmentos internos (450-500 pb) de los 7 genes seleccionados.

-Comparación de las secuencias de cada fragmento con los alelos conocidos en cada locus.

-Asignación de alelos en cada uno de los 7 loci, determinándose el perfil alélico (secuencia de 7 números).

-Comparación del perfil alélico con el de los aislados incluidos en una base de datos centralizada. Existen bases de datos MLST específicas para cada microorganismo (<http://mlst.met>).

-Asignación de un secuenciotipo al perfil alélico de la cepa en estudio.

Una vez que se obtiene el perfil alélico la comparación entre aislados es simple; el grado de proximidad entre ellos puede estimarse mediante el análisis del número de alelos compartidos entre los perfiles. Cada perfil alélico define el tipo de secuencia o secuenciotipo (ST; “*sequencetype*”).

Indicaciones MLST: Se trata de un marcador molecular aplicable en la epidemiología global a largo plazo, dado que permite el seguimiento de clones o líneas clonales en poblaciones bacterianas, permitiendo estudiar procesos de dispersión, permitiendo el seguimiento a pesar de pequeñas variaciones que puedan surgir geográfica o temporalmente. Esta técnica ha sido utilizada para la identificación de líneas clonales hipervirulentas y/o resistentes y su posterior seguimiento(50).

Dado que más arriba hemos considerado distintos aspectos de la RAM, a continuación se describirán las principales características de las infecciones del torrente sanguíneo y su relación

con la ocurrencia de infecciones producidas por microorganismos resistentes a oximinocefalosporinas.

INFECCIONES DEL TORRENTE SANGUÍNEO:

Las infecciones del torrente sanguíneo (BSIs: *blood stream infections*) son una causa importante de morbi-mortalidad en todo el mundo (51) (52).

Estas entidades se presentan cuando en pacientes infectados se recupera un microorganismo patógeno a partir de hemocultivos. Sin embargo, no siempre un hemocultivo positivo implica una infección del torrente sanguíneo, pudiendo corresponder a contaminación o bacteriemia transitoria (51) (53).

La bacteriemia se define como la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo (51) (53) y puede categorizarse en función de:

i- Su curso temporal (52):

-**Bacteriemia transitoria**: de corta duración, puede asociarse con la manipulación sobre tejidos no estériles, (procedimientos dentales, biopsias sobre mucosa gastrointestinal, etc) (52).

-**Bacteriemia intermitente**: por el pasaje cíclico de microorganismos en el torrente sanguíneo. Generalmente asociada a infecciones focales: abscesos abdominales, neumonía, osteomielitis, colangitis, etc (52).

-**Bacteriemia persistente**: mantenida durante un período prolongado de tiempo, clásicamente asociada con infecciones intravasculares (endocarditis infecciosa, tromboflebitis supurada, etc) (52).

ii- Su origen (52), (54):

-**primaria**; no se identifica un sitio primario de infección, o

-**secundaria**; asociada a un foco localizado de infección (genuourinario, abdominal, respiratorio, etc).

iii- Su lugar de adquisición:

-**Nosocomial**: la bacteriemia es inicialmente detectada (se obtiene el hemocultivo) tras ≥ 48 horas del ingreso hospitalario, o se presenta dentro de las 48 horas tras el alta hospitalaria (51).

Así mismo también se considera como intrahospitalaria si el episodio ocurre antes de las 48 horas, pero directamente relacionado con algún tipo de manipulación invasiva realizada al ingreso hospitalario, (colocación de catéter intravascular, sonda vesical, etc) (55).

-**Comunitaria**: ocurre en un paciente antes del ingreso hospitalario o antes de las 48 horas del ingreso sin estar relacionada con ningún procedimiento realizado tras el ingreso (55).

-Asociada a los cuidados de la salud: es considerada como un tipo particular de infección comunitaria; porque ocurre en pacientes ambulatorios (o dentro de las primeras 48 horas del ingreso hospitalario), pero que tienen contacto periódico con el sistema sanitario; residen en centros de cuidados a largo plazo (como residencias de ancianos), reciben cuidados médicos a domicilio, hemodiálisis, o diálisis peritoneal, quimioterapia intravenosa, cuidados de heridas, nutrición enteral, etc (51) (56) (57).

Las infecciones del torrente sanguíneo son la tercer infección más frecuente entre los pacientes internados en centros de terapia intensiva (CTI) (representando el 15% del total de las infecciones) (57).

y en esta población pueden tener una alta mortalidad (35-50%). En uno de cada 5 pacientes que ingresan a CTI por BSI, la misma es catalogada como asociada a los cuidados de la salud(57).

Microbiología de las infecciones del torrente sanguíneo.

Infecciones del torrente sanguíneo comunitarias: las etiologías principales incluyen en orden decreciente: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Klebsiella pneumoniae* (52).

Infecciones del torrente sanguíneo asociadas a los cuidados de la salud: suelen presentarse en pacientes de mayor edad, con comorbilidades y con una distribución diferente de patógenos (mayores porcentajes de *S. aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* y menores de *S. pneumoniae* y *E. coli*) (52).

Los microorganismos responsables de estas infecciones se parecen más a los encontrados en las bacteriemias nosocomiales que a los de las comunitarias, y también es mayor el riesgo de aislamientos MDR con respecto a las comunitarias (57).

Aunque tradicionalmente las infecciones del torrente sanguíneo por patógenos resistentes se observaban básicamente en pacientes hospitalizados, en la última década se ha observado la emergencia de patógenos MDR en infecciones comunitarias, como *K. pneumoniae* y *E. coli* (52).

Infecciones del torrente sanguíneo nosocomiales: representan un desafío terapéutico sobre todo en pacientes críticos, por las altas tasas de multidrogo resistencia.

Orsini et al (58) analizaron 91 episodios de bacteriemia en pacientes críticos sépticos en un período de 12 meses (mayo 2010-mayo 2011); identificando 122 aislamientos: 59% correspondieron a cocos Gram positivos (CGP) y 31.1% a bacilos Gram negativos (BGN); destacándose en los segundos, en orden decreciente: *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Acinetobacter baumannii* y *Enterobacter cloacae*. Más del 30% de los BGN fueron MDR y de ellos más del 90% producía BLEE, siendo *K. pneumoniae* el BGN MDR más frecuente.

Según la revisión publicada en 2015 por Cortegiani et al (57) sobre bacteriemias en pacientes internados en CTI, el 57.6% del total de microorganismos responsables en caso de bacteriemia nosocomial eran Gram negativos y el 33.4% Gram positivos. El 50.7% de los microorganismos

recuperados exhibían un perfil MDR y el 22% eran extremadamente resistentes (57). Los aislamientos extremadamente resistentes (XDR: “*extreme drug resistant*”) son aquellos que se definen como no susceptibles a al menos un agente en todas salvo 1 o 2 categorías de antibióticos (18).

Entre los BGNs, la resistencia a carbapenems era del 69% en *Acinetobacter spp*, 38% en *K. pneumoniae*, y 37% en *P. aeruginosa* (57). Con respecto a la resistencia entre Gram positivos, el 48% de los aislamientos de *S. aureus* fueron meticilino resistentes y el 23% de los aislamientos de *Enterococcus faecium* vancomicina resistentes (57).

Datos nacionales:

Batista N et al (59) analizaron los perfiles de resistencia de enterobacterias aisladas de hemocultivos en el Hospital de Clínicas y el Hospital Pasteur en los años 2007 al 2009 inclusive, y encontraron que *E. coli* fue la enterobacteria más frecuente; y si bien el 50% de los aislamientos producían β -lactamasas de espectro ampliado, eran pocos los aislamientos productores de BLEE. En cambio más del 50% de los aislamientos de *K. pneumoniae* producían BLEE. Si bien el estudio mostró aumentos de la resistencia antibiótica en las enterobacterias analizadas en los períodos estudiados, los mismos no fueron estadísticamente significativos, pero el estudio ya sugería la importancia de mantener una continuidad en la vigilancia epidemiológica de la resistencia antibiótica en enterobacterias.

En cuanto a los datos publicados por el **Ministerio de Salud Pública** (MSP) de nuestro país, con respecto a la vigilancia de infecciones hospitalarias para CTI de adultos año 2012 (60), disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/tematica/infecciones-asociadas-la-atencion-la-salud?page=1>, se reportaron 206 episodios de bacteriemia nosocomial (relacionados o no a catéter) a nivel país, que representaron el 9.4% de las infecciones hospitalarias reportadas. Por otro lado, en el informe del año 2013 “Ecología microbiana de las infecciones hospitalarias más frecuentes en Unidad de cuidados intensivos de adultos” (61), se reporta con respecto a la etiología de la bacteriemia asociada al catéter que el 59.1% fue debida a bacilos Gram negativos, siendo los más frecuentes (orden decreciente): *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* y *E. cloacae*. En segundo lugar se situaron los cocos Gram positivos (34.9%) siendo los más frecuentes (orden decreciente): *Staphylococcus coagulasa negativos*, *S. aureus* y *Enterococcus spp*. El tercer lugar lo ocuparon los hongos y levaduras (5.9%). En la guía del año 2018 titulada “Plan Nacional de Acción contra la Resistencia Antimicrobiana. Abordaje desde la Salud Pública” (5) se reporta desde el MSP que las infecciones nosocomiales por bacilos Gram negativos representan un problema clínico creciente. En enterobacterias el mecanismo de resistencia más frecuente es la producción de BLEEs; lo que ha determinado una mayor prescripción de carbapenems, lo que ha impactado sobre la resistencia a éstos últimos (5). Si bien diferentes mecanismos pueden llevar a la resistencia a carbapenems, el más importante en virtud de su capacidad de diseminación lo constituyen las carbapenemasas (5). En nuestro país el primer brote hospitalario por un microorganismo productor de carbapenemasa ocurrió en el 2011, y desde entonces un creciente reporte de brotes nosocomiales por productores de carbapenemasa han tenido lugar, tanto en instituciones públicas como privadas (5). De hecho, en el año 2017 se reportaron 10 de estos

brotos a nivel nacional. En nuestro país, la mayoría de las carbapenemasas han sido identificadas en enterobacterias, si bien desde 2014 también se han reportado brotes por no fermentadores productores de carbapenemasas (5). Papa et al. caracterizaron aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas putida* recuperados en 3 hospitales de nuestro país (2011-2013), y reportaron por primera vez la coexistencia de *bla*_{VIM} y *bla*_{GES} en un mismo integrón de clase I en aislamientos de *P. aeruginosa* (62).

Así mismo Bado et al. estudiaron la relación clonal de aislamientos clínicos y de colonización (digestiva/respiratoria) de *A. baumannii* recuperados de pacientes internados en la UCI del Hospital Universitario (agosto 2010-julio 2011), y en un total de 78 aislamientos estudiados detectaron *bla*_{OXA-51} (n= 78), *bla*_{OXA-23} (n=62) y *bla*_{OXA-58}, además de encontrar la presencia de *rmtC* (asociado con metilación ribosomal y alto nivel de resistencia a aminoglucósidos) en dos de los aislamientos clínicos (63).

El problema de la emergencia de los aislamientos productores de carbapenemasas trajo consigo una mayor prescripción de colistina, y ya para el año 2017 se reportó el primer brote de enterobacteria resistente a colistin mediado por *mcr-1* en *E. coli* (64).

A diferencia de lo observado en Gram negativos, no se ha detectado un aumento en los brotes por bacterias Gram positivas hasta la fecha (5).

SEPSIS.

Los datos de infecciones documentadas del torrente sanguíneo son fundamentales, ya que las **bacteriemias reflejan la microbiología de la sepsis** (54).

La sepsis constituye un síndrome caracterizado por anormalidades fisiológicas, patológicas y bioquímicas inducidas por la infección (65).

Desde 1991 se definía la sepsis como SIRS (respuesta inflamatoria sistémica o “*systemic inflammatory response syndrome*”) de causa infecciosa, constituyéndose el SIRS, por la presencia de al menos 2 de (65)

- 1) Temperatura >38°C o < 36°C.
- 2) Frecuencia cardíaca >90 lpm.
- 3) Frecuencia respiratoria >20 rpm o Pa CO₂ <32 mmHg.
- 4) Leucocitosis > 12.000 /mm³ o <4.000/mm³ o >10% formas inmaduras.

Sin embargo, por considerarse que existían limitaciones en cuanto a la sensibilidad y especificidad de estas definiciones, a partir del año 2016 se propuso una nueva definición para sepsis, (65) entendiéndose la misma como una disfunción orgánica, potencialmente mortal, causada por una respuesta desregulada del hospedero a la infección, la cual se objetiva por un aumento en al menos 2 puntos en el score SOFA (“*Sequential Sepsis-related Organ Failure Assessment*”) (65).

Dicho score se obtiene tomando en cuenta múltiples parámetros clínicos y paraclínicos como ser: PaO₂/FiO₂, recuento plaquetario, nivel de bilirrubina, PAM, puntaje en la escala de coma Glasgow, creatininemia, diuresis (65).

La sepsis representa un importante problema de salud pública (65), cuya incidencia verdadera si bien no es conocida, se estima se encuentra en aumento, probablemente en relación al envejecimiento de las poblaciones, con más comorbilidades, y también en función de un mejor reconocimiento (65).

Esta enfermedad afecta anualmente a millones de personas en todo el mundo y determina la muerte de uno de cada cuatro afectados (66) constituyendo, además, la primera causa de muerte en unidades de cuidados intensivos (54). Pero la sepsis no solamente se asocia a morbi-mortalidad a corto plazo, sino que además aquellos pacientes que logran sobrevivir al episodio de sepsis presentan a menudo secuelas físicas, psicológicas y cognitivas a largo plazo, que recaen sobre el sistema de salud y tienen también implicancias sociales y económicas importantes (65).

Dentro de los factores de riesgo de muerte en paciente con sepsis se destacan: tratamiento antibiótico inadecuado, enfermedad subyacente, presencia de shock, necesidad de vasopresores, fallor orgánico múltiple, neutropenia y foco de infección. Algunos de ellos se revisan a continuación. (54).

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS RELEVANTES EN LOS PACIENTES CON BACTERIEMIA Y SEPSIS:

i-Enfermedades subyacentes:

Determinadas comorbilidades predisponen a los pacientes a ciertos tipos de infecciones o de patógenos particulares y pueden también incidir en el curso de su evolución (54). Dentro de ellas se destacan:

Inmunosupresión: aumenta el riesgo de mortalidad por infecciones habituales y también predispone a infecciones por microorganismos infrecuentes en inmunocompetentes (54).

Diabetes mellitus: predispone a infecciones pulmonares, urinarias y de piel y tejidos blandos (54).

Alteraciones o cambios hormonales: algunos cambios como aquellos observados en el embarazo, pueden alterar la función de la inmunidad (sobre todo celular), aumentando el riesgo para ciertas infecciones (54).

Enfermedad pulmonar obstructiva crónica: aumenta el riesgo para infecciones respiratorias y de mortalidad por otras infecciones graves (54).

Cirrosis: genera múltiples alteraciones que aumentan el riesgo de infección como defectos en la quimiotaxis de neutrófilos, ascitis, hipoglobulinemia, hipertensión portal, elevando el riesgo para peritonitis bacteriana espontánea y la mortalidad por infecciones en otros sistemas (54).

Neoplasias: La disfunción orgánica que generan puede predisponer al desarrollo de bacteriemia y sepsis mediante: rotura de las barreras naturales, obstrucción, trastornos metabólicos, infiltración de tejidos esenciales del sistema inmune (médula ósea, hígado, bazo). Además, la quimio y radioterapia tienen efectos deletéreos sobre las defensas del hospedero, aumentando el riesgo de infección invasiva (54).

Desnutrición: los trastornos metabólicos que trae consigo disminuyen especialmente la función de la inmunidad celular (54).

ii-Tratamientos farmacológicos y sustancias tóxicas:

Antibioticoterapia: la antibioticoterapia previa genera modificaciones sobre la microbiota, pudiendo alterar la epidemiología de la enfermedad, con patógenos más resistentes o infrecuentes(54).

Garnacho-Montero y colaboradores (67) encontraron que haber recibido tratamiento antibiótico en el mes previo es una variable independiente relacionada con la administración de antibioticoterapia inadecuada (OR 2.23, IC 95% 1.1- 5.45) en pacientes sépticos ingresados en la unidad de cuidados intensivos.

Corticoides y otros fármacos inmunosupresores: aumentan el riesgo de infecciones infrecuentes o de patógenos oportunistas (54).

Alcoholismo: aumenta el riesgo de infecciones graves por *S. pneumoniae* y *H.influenzae*. La enfermedad gastrointestinal asociada con el alcoholismo puede predisponer a infecciones donde participa la microbiota intestinal (54).

iii-Procedimientos invasivos o cirugía previa: pueden aumentar el riesgo de bacteriemia y sepsis(54). El riesgo de infección posterior a cirugía u otros procedimientos invasivos depende de una compleja interacción entre varios factores: tipo de procedimiento realizado (grado de trauma y contaminación de los tejidos del hospedero involucrados, implante de biodispositivos, duración del procedimiento, etc), factores del hospedero (estado inmune, nutricional, diabetes), factores relacionados a los microorganismos (capacidad de adherencia e invasión), administración de profilaxis antibiótica perioperatoria.

iv-Sitio de infección: Puede influir en la evolución; reportándose mayores índices de mortalidad para infecciones del aparato respiratorio inferior y cuando no se logra identificar el foco(54).

v-Infección adquirida en el hospital: Este tipo de infecciones suelen implicar patógenos multirresistentes, lo que afecta tanto la selección de la antibioticoterapia como su eficacia (54).

Vi – Microbiología – El agente etiológico: la otra cara de la moneda.

Como ya se mencionó previamente, las enterobacterias se encuentran dentro de las principales etiologías de las infecciones del torrente sanguíneo y dentro de ellas *E. coli* y *K. pneumoniae* son las principales involucradas. Cuando producen BLEE, el tipo de enzima expresada, el fenotipo de co-resistencia, y los determinantes de virulencia (68) son importantes determinantes de la evolución de los pacientes.

E. coli:

E. coli patógeno extra-intestinal (ExPEC) causa muchos de los episodios de bacteriemia en el hombre (de hecho *E. coli* es el bacilo Gram negativo más frecuentemente responsable de las infecciones del torrente sanguíneo). Las ExPEC mejor caracterizadas desde el punto de vista de su patogenicidad son las asociadas con infección urinaria (UPEC) y meningitis neonatal (69).

De todas formas, debe tenerse en cuenta que entre más debilitadas las defensas contra la infección del hospedero, menos factores de virulencia resultan necesarios para causar enfermedad, y las cepas se terminan “pareciendo más” a las que forman parte de la microbiota intestinal (69).

Clásicamente se describen 4 grupos filogenéticos en *E. coli*, A, B1, B2 y D (70), aunque posteriormente se describieron los grupos C, E y F (71). La mayoría de las ExPEC recuperadas de infecciones en el hombre pertenecen a los grupos B2 y D (70); mientras que las *E. coli* comensales y “menos patógenas” pertenecen a los grupos A y B1 (70).

Se describen en ExPEC múltiples factores de virulencia (72), tanto cromosómicos (habitualmente localizados en islas de patogenicidad) como plasmídicos, y que incluyen moléculas de adhesión, sideróforos, toxinas, etc. Algunos de estos se resumen en la tabla 3.

Tabla 3: Ejemplos de factores de virulencia en ExPEC.

Factores:	Genes:
Fimbria tipo 1	<i>FimH</i>
Fimbria S	<i>SfaA</i>
Fimbria P	<i>PapC</i>
Fimbria G	<i>PapG</i>
Adhesina afa	<i>Afa</i>
Yersiniabactina (sideróforo)	<i>FyuA</i>
Aerobactina (sideróforo)	<i>IutA</i>
Grupo capsular II	<i>KpsMTII</i>
Cápsula K5	<i>kpsMT K5</i>
Cápsula K1	<i>kpsMT K1</i>
Proteasa de membrana externa	<i>OmpT</i>

Lipoproteína de membrana externa	<i>TraT</i>
Hemolisina F	<i>HlyF</i>
Hemolisina A	<i>HlyA</i>
Factor citotóxico necrotizante 1	<i>cnf1</i>
Factor citotóxico necrotizante 2	<i>cnf2</i>

Adaptado de: Daga AP et al. *Escherichia coli* Bloodstream Infections in Patients at a University Hospital: Virulence Factors and Clinical Characteristics (72).

Daga et al (72) estudiaron 48 episodios de bacteriemia por *E. coli* en un hospital universitario en Brasil, (2015-2017), con recolección de datos epidemiológicos y caracterización de las cepas, incluyendo factores de virulencia, grupos filogenéticos, islas de patogenicidad (PAIs), caracterización de BLEEs. El análisis filogenético mostró que el grupo B2 (45.8%) fue el más prevalente, y era el grupo filogenético con mayor prevalencia en cuanto a factores de virulencia y PAIs. También se encontraron aislamientos pertenecientes al grupo B1 (18.8%) y al grupo E (14.6%). El 16.7% (8/48) producía BLEE, con CTX-M-15 como la enzima más prevalente (72).

Por su parte, Lefort et al (73) examinaron el impacto de factores del hospedero y del microorganismo sobre la mortalidad a 28 días en pacientes con bacteriemia por *E. coli* (1051 pacientes adultos incluidos en el análisis, 15 hospitales en Francia, 2005), y encontraron que en su población, los factores relacionados al hospedero (mayor edad, presencia de cirrosis, inmunocompromiso, etc) tenían mayor peso para predecir la severidad de la bacteriemia que aquellos relacionados con el patógeno.

Secuenciotipos “exitosos” de *E. coli* - dentro de ellos se destacan: ST 131, ST 73, ST95, ST69, ST38, ST12 (74), (75), (76).

***E. coli* ST 131.**

Se ha descrito como agente de infecciones comunitarias y nosocomiales, sobre todo infecciones urinarias y del torrente sanguíneo. Es un secuenciotipo asociado a la producción de BLEE, especialmente CTX-M-15 y resistencia a fluoroquinolonas (gen *aac(6’)-Ib-cr*) (74).

Para mediados de los años ‘2000 el ST 131 destacó como una importante patógeno, exhibiendo con mayor probabilidad un perfil multidrogo resistente y asociado infecciones del torrente sanguíneo comunitarias a partir de un foco urinario (74).

La aparición global de *E. coli* con *bla*_{CTX-M-15} en la comunidad parecería relacionarse con la emergencia de este secuenciotipo: la emergencia mundial *E. coli* con CTX-M-15 se presume por la adquisición por parte del clon de alto riesgo ST 131 de ciertos plásmidos IncF epidémicos, portadores de *bla*_{CTX-M-15}. La combinación de plásmidos epidémicos de resistencia portadores de múltiples determinantes de resistencia antibiótica con clones de alto riesgo de mejorado “fitness”, permitió al ST 131 moverse sin dificultad entre la comunidad y diferentes hospitales y centros de cuidados a largo plazo. Factores de virulencia como *sat*, *iutA*, *malX*, *usp*, *iha*, *hra*,

ompT parecen aumentar la capacidad de *E. coli* ST 131 para colonizar eficientemente tejidos humanos, presentando un score de virulencia más alto con respecto a otros ST no 131. La multidrogo resistencia y presencia de los mencionados factores de virulencia parecen haber sido esenciales para el triunfo ecológico de este clon. También ocurrió la transferencia horizontal de plásmidos con *bla*_{CTX-M-15} entre ST 131 y otros ST no 131 (74).

Cabe mencionar que *E. coli* ST 131 no es una única entidad y puede ser separada en varios pulsotipos; resultando altamente divergente cuando se utiliza PFGE para analizar este clon (74).

La prevalencia de ST 131 varía según el sitio geográfico y la población; pudiendo oscilar entre 10-30% de los aislamientos clínicos de *E. coli*. ST 131 es muy prevalente entre pacientes ancianos, residentes en centros de cuidados a largo plazo, pareciendo asociarse al extensivo uso de antibióticos en ese tipo de centros (74).

La pandemia por ST 131 es básicamente humana, porque este clon parece muy adaptado al hospedero humano (74).

Otros secuenciotipos como **ST 73**, **ST 95**, **ST 69** y **ST 12** también han sido reportados como etiología frecuente de infecciones urinarias y bacteriemias en el hombre. El ST 73 suele presentar un perfil multi-sensible a los antibióticos, por lo que se plantea que la MDR no es una razón dominante para su prevalencia (75), si bien también hay descritos aislamientos portadores de integrones de clase 1 y perfiles más resistentes (76).

K. pneumoniae:

En *K. pneumoniae* la cápsula polisacáridica se describe como su principal atributo de virulencia. Las cepas de se agrupan en más de 160 grupos según serotipado capsular (K1 y K2 son los más importantes) y en más de 480 genotipos según la secuencia de *wzi* para polisacáridos capsulares (77).

Algunos ejemplos de genes de virulencia descritos en *K. pneumoniae* se muestran en la tabla 4, que se muestra a continuación.

Tabla 4: Ejemplos de genes de virulencia descritos en *K. pneumoniae*.

Factores de virulencia:	Genes relacionados
Mucoviscosidad	<i>magA, rmpA, rmpA2.</i>
Biosíntesis de LPS	<i>uge, wabG</i>
Adhesinas	<i>cf29a, fimH, mrkD</i>
Metabolismo de la alantoína	<i>Alls</i>

Sideróforos	<i>iroN, kfu, iucA, iutA, ybtA, irp2, entB and iroB</i>
Citotoxicidad (genotoxina colibactina)	Cluster <i>pks</i>
Ureasa	<i>Urea</i>

Tomado de: Kim D et al. Antimicrobial resistance and virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* affecting 30 day mortality in patients with bloodstream infection (77).

Secuenciotipos “exitosos” de *K. pneumoniae* – ejemplos: ST 258, ST 101.

Complejo clonal 258 (CC 258): incluye el secuenciotipo **ST 258** y sus variantes **ST 11, ST 340, ST 512**(26). Este complejo es uno de los más importantes por su rol en la propagación de la pandemia KPC, la más importante de las serin carbapenemasas (ver más adelante). Si bien la enzima KPC está presente en más de 100 secuenciotipos diferentes, la pandemia de KPC es sobre todo por la propagación de miembros del **CC 258**, que son típicamente resistentes a todos los antibióticos siendo colistin, tigeciclina y gentamicina algunos antibióticos que pueden ser sensibles in vitro (26). Dentro del CC 258, el ST 258 es el clon predominante (26); se trata del secuenciotipo del 70% de las *K. pneumoniae* KPC positivas, presente tanto en Europa, Medio Oriente, EEUU y Latinoamérica, y se le describen 2 linajes genéticos (26):

-Clado I – asociado con KPC-2

-Clado II – asociado con KPC-3.

La divergencia entre los 2 linajes está en una región de 215 kb (“hot spot”) que incluye genes involucrados en síntesis de la cápsula (26).

ST 101: Pertenece al complejo clonal 11, y es considerado un clon emergente; y reportado como agente de infecciones asociadas a la salud en América, Europa y Asia. Ha sido asociado con la presencia de enzimas como OXA-48, CTX-M-15 y también KPC (78), (79), (80).

Clones exitosos de alto riesgo ¿qué los caracteriza?

Tanto *E. coli* ST 131 como *K. pneumoniae* ST 258 son considerados como clones internacionales exitosos, multidrogo resistentes de alto riesgo. Son considerados importantes patógenos humanos y se han diseminado mundialmente, siendo responsables del aumento de la multidrogo resistencia en *E. coli* y *K. pneumoniae* respectivamente (74).

Los clones “exitosos” se consideran una fuente poderosa para la diseminación de elementos genéticos de resistencia, como genes, integrones, transposones, plásmidos. Constituyen plataformas estables para que se mantengan y propaguen genes responsables de resistencia antibiótica y han tenido un rol fundamental en la emergencia de la multidrogo resistencia entre los bacilos Gram negativos, especialmente la familia *Enterobacteriaceae* (74).

Tienen una gran capacidad para sobrevivir y reproducirse. Como pueden sobrevivir por largos períodos de tiempo tienen un rol importante en la diseminación horizontal de resistencia a otras

bacterias, actuando como eficientes donantes y receptores. Han adquirido ciertos atributos que han mejorado su capacidad patogénica y de supervivencia, la cual se ha acompañado también de la adquisición de determinantes de resistencia antibiótica (74).

Estos clones tendrían un “*fitness*” incrementado respecto a otros aislamientos de la misma especie, lo que les permite prevalecer sobre el resto y tener mayores oportunidades para diseminarse y mayor tiempo para adquirir determinantes de resistencia antibiótica desde otras bacterias. La diseminación de clones MDR de alto riesgo se facilita por la presión selectiva de los antibióticos, muy utilizados en hospitales y en la industria de los alimentos de origen animal (74). Para considerarse como clon internacional de alto riesgo MDR, los clones deben presentar las siguientes características (74):

- Distribución global.
- Asociación con varios determinantes de resistencia antibiótica.
- Habilidad para transmitirse efectivamente entre hospederos.
- Mejorada patogenicidad y *fitness*.
- Capacidad para causar infecciones severas y / o recurrentes.

¿Y QUÉ PASA CUANDO EL AGENTE PRODUCE BLEE? – FACTORES PRONÓSTICOS.

Como se mencionó previamente la bacteriemia constituye una condición grave, que implica altas tasas de mortalidad y costos sanitarios (81). Pero mortalidad, estadía hospitalaria y costos sanitarios son aún mayores cuando la bacteriemia es debida a enterobacterias BLEE, pudiendo relacionarse este impacto negativo en la mortalidad con el retraso en la administración de un tratamiento empírico efectivo (82), (83), (84). La mortalidad atribuible a 30 días para bacteriemias por enterobacterias BLEE es variable (4.5-64%), pudiendo llegar a ser alta (85).

Impacto del tratamiento antibiótico empírico.

El tratamiento empírico inicial inadecuado ha sido reportado como un factor de riesgo para mortalidad y también se asocia en forma significativa con aumento de la duración de la estadía hospitalaria (82).

Sin duda el perfil de resistencia habitual de las enterobacterias BLEE, que suele incluir resistencia a múltiples β lactámicos y no β lactámicos limita las opciones terapéuticas e impacta en la efectividad de los planes antibióticos empíricos seleccionados (84).

Lamentablemente, se ha reportado que en forma global hasta un **20%** de pacientes con shock séptico recibe un tratamiento **antibiótico inicial inadecuado** (83).

Girometti et al (86) estudiaron en forma retrospectiva la evolución de pacientes con bacteriemia por *K. pneumoniae* (n=251) con diferentes perfiles de susceptibilidad, durante un período de 2 años (2010-2012) y encontraron que el tratamiento antibiótico empírico resultó adecuado en:

- 74% de las infecciones causadas por *K. pneumoniae* no productoras de BLEE ni KPC,
- 33% de las infecciones por *K. pneumoniae* BLEE y
- 23% por *K. pneumoniae* KPC (p<0.0001).

En total, solo 43% pacientes con bacteriemia por *K. pneumoniae* recibieron tratamiento empírico efectivo. Cuando se analizó el impacto del tratamiento empírico inadecuado en la sobrevida (ajustando por la severidad de las comorbilidades subyacentes) mediante la regresión proporcional de riesgo Cox (*Cox-hazard proportional regression*) se encontró que el recibir antibioticoterapia inadecuada se asoció con una mayor tasa de mortalidad a 30 días, (duplicación de la misma, HR 1.9 con IC 95% 1.1-3.4, p=0.02) (86).

El impacto positivo sobre la sobrevida que se obtiene con una antibioticoterapia inicial adecuada es mayor entre mayor es la gravedad de la presentación de la bacteriemia (87), (88).

Tumbarello et al (82) encontraron como **factores de riesgo para tratamiento empírico inicial inadecuado** en pacientes con bacteriemia por *E. coli* BLEE los siguientes factores:

- Foco desconocido de la bacteriemia (OR 4.86; IC95% 1.98-11.91; p 0.001),
- Aislamiento con perfil MDR (OR 3.73; IC95% 1.58 - 8.83; p 0.003),
- Hospitalización en los 12 meses previos a la infección del torrente sanguíneo actual (OR 3.33; IC 95% 1.42 - 7.79; p 0.005)
- Tratamiento antimicrobiano en los 3 meses previos a la infección del torrente sanguíneo actual (OR, 2.65; IC 95% 1.11 - 6.29; p 0.02).

Se conoce que el **tratamiento antibiótico empírico** no es el único factor que influye en la **evolución de los pacientes con infecciones por enterobacterias BLEE; el foco y la severidad de la infección**, la posibilidad de lograr o no el control sobre el foco, el **estado previo de salud y comorbilidades**, son también importantes condicionantes en la evolución de estos pacientes(37), (87) y se discutirán a continuación.

Foco de infección:

Se consideran como focos de alto riesgo (mortalidad >30%) pulmón, peritoneo y foco desconocido y de bajo riesgo (mortalidad ≤ 30%) foco urinario, catéter intravascular, árbol pancreato-biliar (89), (90).

Para el caso del foco pulmonar la mayor mortalidad podría explicarse en relación a que muchos antibióticos pueden tener una limitada penetración pulmonar, y obviamente no existe posibilidad de remover el foco de infección (86).

Severidad de la infección.

En el trabajo de Girometti et al (86), al comparar el grupo que no sobrevivió a los 30 días versus el grupo que sobrevivió a los 30 días, los que murieron tenían una mayor probabilidad de proceder de unidad de cuidados intensivos (48% vs 11% p 0.0001), tenían una media de score APACHE basal más alta (24 vs 14, p <0.0001), tenían mayor chance de haber presentado complicaciones médicas intercurrentes (36% vs 16% p =0.001), mayor chance de haber recibido terapia inmunosupresora con corticoides (31% vs 14% p =0.004), y de haber desarrollado sepsis o shock séptico persistente en las primeras 72 horas (76% vs 15% p<0.0001). Se encontró que el **APACHE II** (ver tabla 5) calculado el día del hemocultivo podía discriminar entre pacientes no sobrevivientes y sobrevivientes a los 30 días del hemocultivo positivo (aROC 0.88, 0.83-0.92 p<0.0001) y predecir correctamente el status sobrevida en el 83% del total del cohorte del estudio. La inclusión de covariables clínicas al modelo de sobrevida (cirrosis, transplante de órgano sólido, enfermedad hematooncológica, diabetes, terapia con corticoides, complicaciones intercurrentes) no mejoró significativamente la discriminación del modelo de sobrevida respecto al uso del APACHE II solo (aROC 0.88 vs0.89 p =0.96). Debido a esto, las variables de tratamiento antibiótico se analizaron solo utilizando el APACHE II como la covariable subyacente del riesgo de sobrevida. Un **APACHE II >17** se encontró como el punto de corte óptimo para definir pacientes con alto riesgo (48/80 60%) y bajo riesgo (10/137 7%) de mortalidad a 30 días.

Si bien el score APACHE II es un sistema de clasificación pronóstica validado primariamente para pacientes que ingresan a cuidados intensivos (91) que evalúa estadísticamente la probabilidad de muerte del enfermo en el episodio actual, su cálculo el día de obtención del hemocultivo demostró ser un predictor útil de la evolución de pacientes con bacteriemia(86).

Tabla 5: Parámetros para el cálculo del SCORE APACHE II.

Temperatura °C
Presión arterial media mmHg
Frecuencia cardíaca
Frecuencia respiratoria
Gradiente A-a de O₂ (Utilizar solo si la FiO₂ es mayor de 0.5):
paO₂ (Utilizar solo si la FiO₂ es menor de 0.5):
Bicarbonato en mmol/L (Utilizar sólo si el pH no está disponible):
pH arterial:
Sodio sérico (mmol/L):
Potasio Sérico (mmol/L):

Creatinina sanguínea:
Hematocrito (%):
Leucocitos / mm³:
Puntuación en la Escala de Coma de Glasgow:
Edad (años):

Tomado de: Campbell NN et al. APACHE II scoring system on a general intensive care unit: audit of daily APACHE II scores and 6-month survival of 691 patients admitted to a general intensive care unit between May 1990 and December 1991. (91)

Otros scores para valorar severidad de la presentación:

Quick Pitt (qPitt): El score de Pitt se utiliza como medida objetiva de la severidad en agudo de la infección del torrente sanguíneo del paciente. Un mayor score se asocia con una mayor mortalidad. En un esfuerzo por simplificar su aplicación Battle et al (88) desarrollaron el score “*quick Pitt*” (ver tabla 6), que utiliza variables binarias para predecir mortalidad en pacientes con bacteriemia por bacilos Gram negativos. Los autores encontraron que un **qPitt de 2 o más** identifica a pacientes con alto riesgo de mortalidad: la mortalidad a 14 días era del 3% en pacientes con qPitt <2 y del 26% con ≥2 (p<0.001) (88).

Tabla 6: Score “*quick Pitt*” para bacteriemia.

Variable:
Hipotermia (Temperatura <36°C)
Falla respiratoria (frecuencia respiratoria ≥25 rpm o necesidad de ventilación mecánica)
Hipotensión

(Presión arterial sistólica < 90mmHg o necesidad de vasopresores)
Falla cardíaca
Alteración del estado mental.

Tomado de: Battle SE et al. Derivation of a quick Pitt bacteremia score to predict mortality in patients with Gram-negative bloodstream infection (88).

Quick SOFA: Se trata de otro score que surgió en 2016 (92) evalúa la posibilidad de riesgo alto en paciente con sospecha de sepsis, teniendo el beneficio que se calcula con solo 3 parámetros: estado mental alterado o empeorado, frecuencia respiratoria ≥ 22 rpm y presión arterial sistólica ≤ 100 mm Hg. La dirección <https://www.mdcalc.com/qsofa-quick-sofa-score-sepsis>: permite el cálculo del mismo online.

Otros factores de mal pronóstico:

Como se ha comentado en apartados anteriores, existen factores modificables relacionados al *outcome* de los pacientes con infecciones del torrente sanguíneo por enterobacterias MDR, como el tratamiento antibiótico empírico y el control del foco inicial (86) mientras que hay otros **no** modificables, que se consideran de **mal pronóstico**:

-**Edad avanzada** (93). En el trabajo de Lin et al (94) se detectó la edad mayor o igual a 60 años como factor de peor pronóstico.

- **Anemia** (94).

- **Leucopenia**(77).

-**Mayor severidad de la presentación.** Ya fue explicada en párrafos anteriores. Puede determinarse en forma objetiva a través de los altos valores en los score basales calculados el día del hemocultivo; APACHE II de 17 o más (86), o qPitt de 2 o más (88).

-**Mayor severidad de la enfermedad subyacente** (94). Para estratificar objetivamente la severidad de las comorbilidades algunos autores (95) utilizan el **índice de Charlson** (*Charlson Comorbidity Index*; ver tabla 7) al momento de la ocurrencia de la infección del torrente sanguíneo (96). Este índice categoriza las comorbilidades del paciente, ponderándolas (+1 a +6) en base al riesgo ajustado de mortalidad, y a través de la suma de cada una se obtiene un valor para el índice que resume la “carga o peso de la comorbilidad” del paciente. Un índice de Charlson = 0 implica ausencia de comorbilidades, mientras que a mayor puntuación se predice un mayor riesgo de mortalidad o consumo de recursos sanitarios (96).

Tabla 7: Índice de Charlson.

Condición	Puntaje asignado (ponderación)
Infarto de miocardio	1
Insuficiencia cardíaca congestiva	1
Enfermedad vascular periférica	1
Enfermedad cerebrovascular	1
Demencia	1
Enfermedad pulmonar crónica	1
Enfermedad del tejido conectivo	1
Enfermedad ulcerosa	1
Enfermedad hepática leve	1
Diabetes	1
Hemiplegia	2
Enfermedad renal, moderada o severa	2
Diabetes con daño en órgano blanco.	2
Cualquier malignidad	2
Leucemia	2
Linfoma	2
Enfermedad hepática moderada o severa	3
Neoplasia sólida metastásica	6
SIDA	6

Tomado de: Charlson ME et al. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation (96).

Así un valor alto (>2) en el índice resulta un factor de riesgo para mortalidad intrahospitalaria en pacientes con diversos tipos de infecciones, incluyendo las del torrente sanguíneo (95).

-Malignidad (94).

-Cirrosis hepática (94).

-Bacteriemia polimicrobiana (94).

-Bacteriemia nosocomial (93).

-Foco no urinario (89), (90), (94).

De todo lo expresado anteriormente se desprende la importancia de la sospecha precoz de la presencia de BLEE en los microorganismos causantes de bacteriemias.

El reconocimiento clínico y microbiológico de estas enzimas, así como la vigilancia de su prevalencia y diseminación resultan claves para guiar el tratamiento empírico en pacientes en quienes se sospecha infecciones por bacilos Gram negativos MDR en función de la presencia de factores de riesgo individuales. Así mismo, para que un tratamiento empírico resulte óptimo también debe basarse en datos de vigilancia locales, idealmente de la ciudad y concretamente del centro de salud. De esta manera, conocer los patrones de susceptibilidad antibiótica exhibidos por aislamientos BLEE, es fundamental para optar por las opciones más adecuadas. Estudios prospectivos han demostrado mejores tasas de sobrevida en pacientes en quienes la terapia empírica inicial es activa frente al agente de la infección versus cuando no ofrece cobertura frente al patógeno (97).

FACTORES DE RIESGO PARA INFECCIONES POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEES.

Múltiples trabajos han investigado factores de riesgo para infección y colonización por enterobacterias BLEE (98), (99), (100) dado que el correcto análisis de las características clínicas de los pacientes puede auxiliar en la selección de tratamientos antibióticos empíricos adecuados. Algunos de los factores reportados son:

- ✓ Antecedente de infección / colonización previa por enterobacteria resistente a cefalosporinas de tercera generación (100).
- ✓ Estancia hospitalaria prolongada (101).
- ✓ Internación prolongada en unidad de cuidados intensivos (101).
- ✓ Presencia de dispositivos invasivos; catéter vascular (102), catéter urinario (99), (103), tubo de gastrostomía (98), y asistencia ventilatoria mecánica (101).
- ✓ Consumo previo de antibióticos (6 meses previos) (103), especialmente cefalosporinas de tercera generación, trimetoprima-sulfametoxazol y ciprofloxacina (99), (104).
- ✓ Proceder de centro de cuidados a largo plazo (98), (105).
- ✓ Presencia de comorbilidad (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes, cáncer, antecedente de trasplante previo) (98).
- ✓ Antecedente de hospitalización (6-12 meses previos) al actual episodio de bacteriemia (99), (102), (106).
- ✓ Múltiples consultas en el departamento de emergencia en el último año (3 o más) (105).

Se han desarrollado “scores” (100), (105) y flujogramas (102) para predecir la posibilidad de que un microorganismo BLEE sea responsable de la infección, y así optimizar el tratamiento antibiótico empírico, evitando a su vez la sobre indicación de carbapenems.

Lee et al (105) realizaron un estudio de cohorte retrospectivo multicéntrico (Taiwan) con el objetivo de diseñar un score rápido y sencillo para identificar pacientes en riesgo de presentar bacteriemia adquirida en la comunidad por enterobacteria BLEE. Se incluyeron 1141 pacientes adultos con bacteriemia de origen comunitario, monomicrobiana por enterobacterias, (período 2008-2013). En 65 pacientes (5.7%) la enterobacteria responsable producía BLEE. Encontraron 4 predictores de riesgo para bacteriemia por BLEE que presentaron alto OR en el análisis multivariado, (ver tabla 8) y cada uno sumaba +1 para la construcción del score: uso reciente de antibióticos (OR 15.29), procedimiento invasivo reciente (OR 12.33), procedencia de centro de cuidados a largo plazo (OR 27.77), y ser usuario frecuente del departamento de emergencia (OR 9.98). Con un punto de quiebre de +2 en el score, obtuvieron una sensibilidad de 84,6% y especificidad de 92,5% para identificar pacientes con riesgo de presentar una bacteriemia comunitaria por productor de BLEE.

Tabla 8: Predictores para riesgo de bacteriemia por enterobacteria BLEE según Lee et al.

Uso reciente de antibióticos.
Procedimiento invasivo reciente
Procedencia de centro de cuidados a largo plazo.
Usuario frecuente del departamento de emergencias.

Tomado de: Lee CH , et al. A simple scoring algorithm predicting extended-spectrum β -lactamase producers in adults with community-onset monomicrobial Enterobacteriaceae bacteremia: Matters of frequent emergency department users (105)

En el trabajo de Froding I et al (107) se describen como factores de riesgo para bacteriemia comunitaria por enterobacterias BLEE los antecedentes de: cultivo previo por enterobacteria BLEE, biopsia prostática y atención hospitalaria previa en el extranjero.

Holmgren et al (100) se propusieron describir un score para predecir el riesgo de bacteriemia por enterobacteria resistente a cefalosporinas de tercera generación (sin discriminar entre BLEE o AmpC), que fuera sencillo de calcular y aplicable a entornos de baja prevalencia de resistencia. El trabajo se llevó a cabo en Suecia, donde se incluyeron pacientes con bacteriemia por *E. coli* o *K. pneumoniae* (período 2016-2017). Para la construcción del score seleccionaron tres variables que tanto en el análisis univariado como multivariado demostraron estar asociadas en forma estadísticamente significativa con bacteriemia por enterobacteria resistente a cefalosporinas de tercera generación:

- atención previa en hospital extranjero (OR 3.7, IC95% 1.3-10.7, p 0.016 en análisis multivariado),

- enterobacteria resistente a cefalosporinas de tercera generación en hisopado rectal realizado durante los 2 años previos (OR 5.3 IC95% 1.2-23.9, p 0.032 en análisis multivariado),
- hemocultivo o urocultivo con enterobacteria resistente a cefalosporinas de tercera generación realizados durante los 2 años previos (OR 38.2 IC95% 9.9-147.9, p <0.001 en análisis multivariado).

Cuando al menos una variable se encuentra presente el score se considera como positivo y cuando ninguna negativo; dando lugar a una sensibilidad 53%, especificidad 95%, valor predictivo negativo 97% y valor predictivo positivo 38%. Así, proponen que dado el alto valor predictivo negativo del score, en pacientes con score negativo y que no sean críticos, no sería necesario cubrir con el tratamiento empírico enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación.

Sousa A. et al (102) publicaron en 2018 un flujograma de toma de decisiones que busca predecir la probabilidad de que la bacteriemia sea debida a un microorganismo BLEE (+) en función de ciertas variables:

- infección/ colonización por microorganismo BLEE en los 6 meses previos,
- hospitalización por >6 días en los últimos 6 meses,
- tratamiento antibiótico >14 días en últimos 6 meses,
- edad >43 años,
- y dispositivo vascular crónico al momento de la bacteriemia.

Según lo publicado, su algoritmo logra una sensibilidad 71%, especificidad 92%, valor predictivo positivo 79% y valor predictivo negativo 88% (102).

TRATAMIENTO EMPÍRICO EN PACIENTES CON INFECCIONES POR BLEE+.

La vigilancia de la prevalencia y diseminación de los microorganismos MDR en conjunto con políticas sobre el uso racional de antimicrobianos parecen aspectos claves en la estrategia a seguir para preservar opciones terapéuticas dentro del limitado arsenal hoy en día existente.

Son múltiples los factores que influyen en la evolución de los pacientes con infecciones por enterobacterias BLEE (edad, comorbilidades, foco de infección, severidad, y otros que se explican más adelante), y dentro de ellos el tratamiento empírico recibido es uno de los más importantes, especialmente por tratarse de un factor modificable (37).

Las infecciones causadas por enterobacterias BLEE se asocian a mayores tasas de mortalidad, estadía hospitalaria prolongada, y aumento en costos sanitario, y algunos autores han reportado el impacto negativo en términos de mortalidad, cuando estos pacientes reciben un tratamiento empírico inadecuado (97). Pero seleccionar un tratamiento empírico que resulte activo no es sencillo, dado que no son muchas las opciones terapéuticas disponibles de donde elegir. Como se explicó antes, los genes codificantes de estas enzimas se encuentran en elementos móviles, con gran facilidad para la diseminación horizontal, que característicamente también portan determinantes de resistencia para otras familias de antibióticos, y así un único plásmido

conjugativo puede ser suficiente para conferir un fenotipo de multi resistencia antibiótica(33). Así resulta frecuente la co-resistencia con fluoroquinolonas, cotrimoxazol y aminoglucósidos en enterobacterias BLEE, lo que deja pocas alternativas al uso de carbapenems.

Se entiende así que el tratamiento de las infecciones por enterobacterias BLEE resulta complicado, y el problema es aún mayor dado que estos aislamientos han pasado a ser pandémicos y así una amenaza a la salud pública, en relación a los malos resultados y altas tasas de mortalidad asociadas (84).

De esta forma al aumentar la prevalencia de BLEEs aumenta el consumo de carbapenems, lo que favorece la emergencia de enterobacterias resistentes a carbapenems a través de la difusión de carbapenemasas plasmídicas (33).

Pero ¿qué opciones diferentes a carbapenems existen para el tratamiento de infecciones por enterobacterias BLEE?

i) Combinaciones β lactámico + Inhibidor de β -lactamasas (IBL).

Piperacilina-tazobactam (PTZ) presenta una buena actividad in vitro contra aislamientos de *E. coli* productores de BLEE, aunque algo menor frente a *K. pneumoniae* BLEE. Hay publicaciones que reportan menor actividad de las combinaciones β lactámico+IBL en infecciones que cursan con alto inóculo (bacteriemia, neumonía, e infecciones osteoarticulares) (37).

Modelos PK/PD han demostrado una tasa de éxito del **99%** para alcanzar el parámetro objetivo Tiempo>CIM 50% para enterobacterias BLEE (dosificación 4,5 gr PTZ i/v cada 6 horas) cuando la CIM del aislamiento es **≤ 8 ug/ml**, mientras que con valores de CIM de 16 ug/ml la tasa de éxito cae al 57% (37).

Así mismo, varios estudios han demostrado mejores resultados clínicos en pacientes críticos cuando la administración de PTZ se realiza en infusión prolongada o continua (37).

La CIM observada para la asociación β lactámico+IBL frente a enterobacterias BLEE parecería depender de (37):

1)El tipo de BLEE producida. Los aislamientos que producen BLEEs derivadas de SHV tienden a ser más resistentes a PTZ, y dentro de la propia familia CTX-M hay también diferencias. Según estudios de vigilancia se reportó que la susceptibilidad a PTZ en enterobacterias BLEE fue del 92.9% en productores de CTX-M-14 *-like*, 67,2% en CTXM-15-*like* y 45,8% cuando la enzima involucrada era tipo SHV. En forma global las enzimas de la familia CTX-M pueden ser más eficientemente inhibidas por tazobactam que aquellas de tipo SHV o TEM.

2) El nivel de producción de la enzima.

3) La coproducción de otras β -lactamasas , tanto de clase A (BLEEs o enzimas resistentes a inhibidores), clase C o incluso clase D (ej presencia de *bla_{OXA-1}*).

4) La presencia de otros mecanismos de resistencia (como pérdida de porinas).

Así parecería importante conocer antes de seleccionar PTZ para el tratamiento de infecciones por productores BLEE los patrones de resistencia locales, así como la epidemiología molecular de las BLEEs (37).

Son numerosos los estudios que comparan PTZ versus carbapenems tanto para tratamiento empírico como definitivo de infecciones por enterobacterias BLEE; y los resultados pueden llegar a ser conflictivos (37), (108).

Pero hay que tener en cuenta que hay diferencias entre los estudios que pueden explicar los resultados discordantes: las características de los pacientes incluidos (edades, comorbilidades, scores SOFA), la dosificación administrada de PTZ, la proporción relativa de diferentes enterobacterias, el tipo de BLEE más prevalente, la prevalencia de coproducción de AmpC y el foco de la bacteriemia entre otros aspectos (37).

En la revisión de Sfeir M et al (85) PTZ resultó el IBL más frecuentemente empleado en los estudios analizados, seguido de amoxicilina-clavulánico y cefoperazona-sulbactam. El metanálisis encontró que la mortalidad a 30 días del tratamiento intravenoso con combinación β lactámico+IBL no fue significativamente superior en comparación con el tratamiento con carbapenems en pacientes con bacteriemias por enterobacterias BLEE (pooled OR 1.07, IC95% 0.81-1.82) (85). No se encontró diferencia estadísticamente significativa en la mortalidad a 30 días entre pacientes que recibieron PTZ intravenoso versus pacientes que recibieron carbapenem para el tratamiento de infecciones del torrente sanguíneo por enterobacterias BLEE (pooled OR 1.18, IC95% 0.93-1.5) (85). En este análisis la enterobacteria más frecuentemente aislada fue *E. coli*. Cuando se analiza separadamente la mortalidad en función de la CIM de PTZ, se observa una mayor mortalidad (pero con una diferencia no significativa estadísticamente) cuando la CIM de PTZ es $>1/4$ ug/ml aunque $\leq 4/4$ ug/ml (85). PTZ parece ser una alternativa para el tratamiento de bacteriemias por enterobacterias BLEE, especialmente cuando la CIM al mencionado antibiótico es baja (como $\leq 0,5/4$ ug/ml), y/o cuando el foco de la bacteriemia es genitourinario o intraabdominal (85).

En el estudio multicéntrico de Ng TM et al (109) en pacientes con bacteriemia BLEE (+) por *E. coli* o *K. pneumoniae* tratados con PTZ versus carbapenems no se encontró que la administración empírica de PTZ se asociara con un aumento en la mortalidad a 30 días y como aspecto positivo se reportó que los pacientes bajo PTZ presentaron menos infecciones por microorganismos MDR y hongos, en comparación con el grupo del carbapenem.

Por otra parte, una preocupación que surge para el tratamiento de las bacteriemias por enterobacterias BLEE con combinaciones de β lactámicos+IBL es el llamado “efecto inóculo”, que surge de estudios in vitro que demostraron una mayor hidrólisis del β lactámico frente a altos inóculos bacterianos (con el consiguiente aumento de la CIM, de hasta 8 veces) (85).

Este efecto inóculo se observa mayoritariamente frente a PTZ en enterobacterias productoras de BLEE de tipo SHV (85). Así el tratamiento más adecuado no solo parece depender de la CIM a PTZ sino al tipo de BLEE involucrada; cuando se detecte *bla*_{SHV} sería preferible un carbapenem, pero si se detecta BLEE de tipo TEM podría preferirse el uso de PTZ. Esto señala la importancia de la caracterización molecular de los determinantes de resistencia involucrados (85).

En suma, podría afirmarse que la administración intravenosa de β lactámicos+IBL, particularmente PTZ, es no inferior al empleo de carbapenems frente a las enterobacterias BLEE, y generaría una menor presión de selección para la subsecuente aparición de aislamientos resistentes a carbapenems (85). La revisión de Aslan et al (37) concluye que los mejores resultados clínicos se observarían frente a aislamientos con menores CIM a PTZ (especialmente ≤ 4 ug/ml) y cuando el foco de la bacteriemia es una infección con **bajo inóculo** especialmente infección urinaria (donde a su vez PTZ alcanza altas concentraciones en la orina) o en infecciones donde el inóculo puede reducirse efectivamente mediante intervenciones quirúrgicas (ej colangitis) (37). Ahora bien, cuando se decida indicar PTZ debería optimizarse su administración (altas dosis y/o infusión continua) para lograr adecuadas concentraciones séricas del antibiótico, (85) dado que varios estudios han demostrado mejores resultados clínicos en pacientes críticos cuando la administración de PTZ se realiza en **infusión prolongada o continua** (37).

De todas formas, el tratamiento con carbapenems debería seguir prefiriéndose para el tratamiento de bacteriemias por enterobacterias BLEE cuando se sospeche infecciones de alto inóculo y/o profundas como meningitis, artritis séptica y osteomielitis, especialmente cuando se logre identificar que la BLEE implicada es de la familia SHV (85).

En cuanto a las nuevas combinaciones como ceftazidime/avibactam y ceftolozano/tazobactam la recomendación es reservarlos para el tratamiento de enterobacterias resistentes a carbapenems y *P. aeruginosa* multi resistente (37).

ii) Fluoroquinolonas:

Como ya se mencionó anteriormente, es alta la prevalencia de resistencia a quinolonas entre enterobacterias BLEE. La resistencia puede deberse a mutaciones a nivel cromosómico o a la adquisición de TMQR (*transferable mechanisms of quinolone resistance*), como proteínas Qnr, enzimas modificantes como AAC(6')-Ib-cr, o bombas de eflujo (como QepA y OqxAB).

No se recomiendan estos antibióticos para el tratamiento de infecciones severas, dado que se ha reportado mayor mortalidad en pacientes que recibieron fluoroquinolonas como tratamiento empírico para bacteriemias por enterobacterias BLEE en comparación con carbapenems (37).

iii) Fosfomicina:

La recomendación es que salvo el tratamiento de cistitis no complicadas fosfomicina debería utilizarse en tratamiento combinado frente a otro tipo de infecciones (37). Como ya se mencionó previamente, ya se ha reportado la presencia de *fosA3* y *bla*_{CTX-M} asociados en el mismo plásmido en aislamientos de *E. coli*, lo que puede comprometer la efectividad de este antibiótico en el tratamiento de infecciones por enterobacterias BLEE. Desde China, Bi W et al (110) reportaron 6.7% de resistencia a fosfomicina en aislamientos urinarios de *E. coli* BLEE (en el 70% de los aislamientos la resistencia estaba asociada a la presencia de *fosA3*). En aislamientos de *K. pneumoniae* BLEE, recuperadas de diversas muestras clínicas (incluyendo hemocultivos), los niveles de resistencia reportados han llegado a ser mayores (27.8%) (111).

iv) Aminoglucósidos:

Pueden representar otra opción terapéutica, pudiendo utilizarse como monoterapia en infecciones urinarias por enterobacterias BLEE o como parte de tratamientos combinados en caso de infecciones intraabdominales. Sin embargo, el principal mecanismo de resistencia a aminoglucósidos en enterobacterias las enzimas modificantes de aminoglucósidos (AMEs), son con frecuencia co-producidas en los aislamientos BLEE (lo más frecuente en el mismo plásmido junto con *bla_{CTX-M}*). Por esto resulta atractiva la introducción de plazomicina, un nuevo aminoglucósido que parece no afectado por AMEs (37).

En suma y según la evidencia actualmente disponible, los carbapenems representarían la mejor opción para el tratamiento de infecciones severas por enterobacterias BLEE. Como alternativas a los mismos, frente a infecciones no severas y con bajo inóculo, especialmente infecciones urinarias, podrían considerarse: piperacilina-tazobactam, aminoglucósidos y fosfomicina. Sin embargo (como opinión de expertos) no serían recomendables para infecciones severas, con alto inóculo, en pacientes críticos o inmunodeprimidos (37).

HIPÓTESIS

Por todo lo expuesto en apartados anteriores, en cuanto a etiología de las infecciones del torrente sanguíneo, factores de riesgo para bacteriemia por enterobacterias productoras de BLEE y aspectos pronósticos en los pacientes con dicho tipo de infecciones, nos planteamos las siguientes hipótesis de trabajo:

1. Dentro de las bacteriemias producidas por enterobacterias BLEE+ los principales agentes etiológicos son *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de CTX-M-15.
2. El antecedente previo de infección / colonización por enterobacterias BLEE+, la presencia de dispositivos médicos a permanencia y la bacteriemia nosocomial/asociada a los cuidados de la salud son factores de riesgo para bacteriemia por enterobacterias BLEE.
3. La presencia de bacteriemia por enterobacteria BLEE+ es un factor de riesgo para tratamiento empírico inicial inactivo.

OBJETIVOS.

Objetivos Generales:

- 1) Caracterizar, fenotípica y molecularmente, los aislamientos de enterobacterias productoras de BLEE recuperadas de episodios de bacteriemia en pacientes adultos atendidos en el Hospital Universitario.
- 2) Caracterizar, desde el punto de vista clínico-epidemiológico, los episodios de bacteriemia por enterobacterias en pacientes adultos atendidos en el Hospital Universitario.

Objetivos específicos:

-En relación al objetivo general 1 nos proponemos los siguientes objetivos específicos:

-Determinar la distribución, según frecuencia, de las especies y géneros de enterobacterias responsables de los episodios de bacteriemia y determinar la prevalencia de BLEE en las mismas.

-Conocer para las enterobacterias con test fenotípico positivo para BLEE: genes de resistencia de las β -lactamasas de espectro extendido, perfiles de sensibilidad, presencia de determinantes de resistencia transferibles a quinolonas más prevalentes (*qnrB* y *aac(6')-Ib-cr*) y relación clonal entre las especies BLEE más prevalentes.

-En relación al objetivo general 2 nos proponemos los siguientes objetivos específicos:

-Conocer las principales características demográficas de la población en estudio.

-Conocer la distribución, según frecuencia, de los episodios de bacteriemia según sitio de adquisición de la infección (comunitaria, asociada a los cuidados de salud y nosocomial), y foco de origen.

-Conocer los tratamientos antibióticos empíricos y definitivos administrados.

-Determinar la presencia de factores de riesgo para infecciones por enterobacterias productoras de BLEE y para mortalidad intrahospitalaria.

METODOLOGÍA.

Diseño - se trata de un estudio con las siguientes características:

- Observacional.
- Analítico.
- Casos- controles (relación 1:1), con recolección de datos retrospectiva.

Población:

Se incluyeron en el estudio pacientes adultos (≥ 18 años) atendidos en el Hospital Universitario en el período 01/01/2014 a 30/11/2015, que presentaron al menos un hemocultivo positivo por enterobacteria. Los pacientes fueron identificados a través de la consulta de los registros de las bacteriemias de la repartición Microbiología del Laboratorio Clínico del Hospital Universitario.

Los pacientes se consideraron elegibles para el análisis cuando tenían un hemocultivo positivo y suficiente documentación en los registros médicos. Solo el primer hemocultivo positivo (primer episodio de bacteriemia) por paciente en el período de estudio fue incluido para el análisis.

Se trata de una muestra seleccionada por conveniencia, no realizándose cálculo para estimación del tamaño muestral.

Centro:

El estudio se realizó en forma conjunta, entre el **Departamento de Laboratorio Clínico del Hospital Manuel Quintela** (Montevideo-Uruguay) y el **Laboratorio de Resistencia Antibiótica** del Depto de Bacteriología y Virología del Instituto de Higiene, ambos pertenecientes a Facultad de Medicina, Universidad de la República.

El Hospital Manuel Quintela es un hospital universitario, terciario, con un total de egresos anuales de 8.203 y 50.189 consultas en emergencia (producción 2017; <http://www.hc.edu.uy/index.php/conozca-el-hc/indicadores>).

El Laboratorio de Resistencia Antibiótica realiza actividades de investigación en relación a tres grandes áreas:

- i) determinación de mecanismos de resistencia y sus entornos genéticos,
- ii) estudios de epidemiología molecular aplicada a microorganismos multi-resistentes,
- iii) determinación de asociaciones y factores de riesgo para la colonización e infección por microorganismos multi-resistentes.

Aspectos éticos: Se trata de un estudio aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Clínicas (se adjunta carta de aprobación en la sección de Anexos, documento 1). Dado que el trabajo carece de impacto clínico directo, dado que ningún caso se encontraba activo al momento de su realización (recolección retrospectiva de datos) y en todo momento se mantuvo la

confidencialidad de los datos se consiguió la aprobación del estudio por el Comité de Ética pese a no contar con el consentimiento informado, que hubiera sido lo deseable, aunque desde un punto de vista práctico poco viable de realizar (imposibilidad de contactar a todos los pacientes por falta de información en los registros, pacientes fallecidos durante la internación, etc).

Financiación: el estudio contó con financiación ANII, código de propuesta FMV_3_2016_1_126580, Fondo María Viña – 2016.

Investigación de factores de riesgo para bacteriemia por enterobacterias BLEE:

Casos: pacientes con bacteriemia por enterobacteria productora de BLEE (confirmada molecularmente) durante el período de estudio.

Controles: pacientes con bacteriemia por enterobacteria negativa para producción de BLEE y sensible a cefalosporinas de tercera generación durante el período de estudio (excluyéndose pacientes cuyos aislamientos aún en ausencia de BLEE fueran resistentes a cefalosporinas de tercera generación, como aislamientos portadores de enzimas AmpC cromosómicas desreprimidas o plasmídicas).

Investigación de factores de riesgo para mortalidad intrahospitalaria en pacientes con bacteriemia por enterobacteria.

Se definió mortalidad intrahospitalaria como **muerte**, por cualquier causa, **durante la internación** en el Hospital Universitario. Se operacionalizó como pacientes con estatus al egreso = fallecido, según constara en los registros médicos.

Casos: pacientes con bacteriemia por enterobacteria durante el período de estudio, que presentaron mortalidad hospitalaria por cualquier causa (estatus al egreso: fallecidos).

Controles: pacientes con bacteriemia por enterobacteria durante el período de estudio, que egresaron vivos (status al egreso: vivo).

Definiciones y variables:

Bacteriemia: presencia de bacterias en sangre, objetivable por presencia de hemocultivo positivo (51), (53).

Bacteriemia comunitaria: aquella que se detecta en paciente ambulatorio (que no procede de centros de cuidados a largo plazo ni ha tenido procedimiento médico invasivo en las 72 horas previas), o en paciente internado dentro de las primeras 48 horas de su ingreso, pero sin estar relacionada con ningún procedimiento médico realizado tras el ingreso (55) y no cumple los criterios de bacteriemia nosocomial ni asociada a los cuidados de la salud.

Bacteriemia asociada a los cuidados de la salud: aquella que se detecta en pacientes ambulatorios (o dentro de las primeras 48 horas del ingreso hospitalario), pero que tienen contacto periódico con el sistema sanitario (residen en centros de cuidados a largo plazo como residencias de ancianos, reciben cuidados médicos a domicilio, hemodiálisis, o diálisis

peritoneal, quimioterapia intravenosa, cuidados de heridas, nutrición enteral, etc), o han tenido en las 72 horas previas a la obtención del hemocultivo algún procedimiento médico invasivo, relacionable al episodio de bacteriemia (51), (56), (57).

Bacteriemia nosocomial: aquella que se detecta por hemocultivo positivo que:

- fue obtenido tras >48 horas del ingreso hospitalario (51), o
- fue obtenido antes de las 48 horas del ingreso, pero la bacteriemia está directamente relacionada con algún tipo de manipulación invasiva realizada al ingreso hospitalario, (colocación de catéter intravascular, sonda vesical, etc) (55), o
- fue obtenido dentro de las primeras 48 horas tras el alta hospitalaria (51).

Bacteriemia secundaria: bacteriemia en la que pudo determinarse su foco de origen (54). El foco de la misma se determinó clínicamente por el reconocimiento de un sitio de infección activo concomitante con la bacteriemia, o por el aislamiento del mismo microorganismo (idem género, especie y antibiograma) en otra muestra clínica, anterior o simultánea, con la presentación de la bacteriemia (105)

Bacteriemia sin foco evidente: Si los médicos tratantes no pudieron determinar el foco de la bacteriemia ni clínica ni paraclínicamente (bacteriemia primaria) (52), (54), o en los registros médicos la información es insuficiente para asignarse un sitio de origen específico, entonces se define como bacteriemia sin foco evidente.

Variables:

Se listan a continuación en la tabla 9, su descripción y categorías se encuentran especificadas en el anexo 2.

Tabla 9: Listado de las variables estudiadas en el presente trabajo.

Variables demográficas	Edad, sexo, procedencia, piso de internación.
Variables relacionadas con comorbilidades y factores modificantes de riesgo	Inmunosupresión, enfermedad hematooncológica o neoplásica, tipo de enfermedad hematooncológica/neoplásica, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica, presencia de hemodiálisis o diálisis peritoneal (DPCA), hepatopatía, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), utilización de dispositivo médico a largo plazo previo al ingreso, tipo de dispositivo médico a largo plazo, paciente institucionalizado, hospitalización en 6 meses previos, cirugía en 6 meses previos, presencia de BLEE previa.

VARIABLES RELACIONADAS AL EPISODIO DE BACTERIEMIA POR ENTEROBACTERIA	Tipo de bacteriemia, foco de la bacteriemia, score qPitt, azoemia, creatininemia, leucocitosis, neutropenia
VARIABLES RELACIONADAS CON LA TERAPÉUTICA Y OUTCOME	Necesidad de CTI durante la actual internación, antibioticoterapia previa a la obtención del hemocultivo, tipo de antibioticoterapia previa a la obtención del hemocultivo, tratamiento antibiótico empírico para la bacteriemia, tipo de antibiótico empírico, más de un antibiótico empírico, tratamiento antibiótico empírico activo para la bacteriemia, cambio en el tratamiento de la bacteriemia, tipo de cambio en el tratamiento, tratamiento antibiótico ajustado por el hemocultivo, status al egreso, días de internación entre obtención del hemocultivo y egreso.

Metodología para el análisis microbiológico:

Los hemocultivos fueron procesados en forma habitual en el Laboratorio Clínico del Hospital de Clínicas. Las cepas de enterobacterias recuperadas de los hemocultivos (frascos BacT/ALERT® FA Plus y equipo automatizado BacT/ALERT® 3D, bioMérieux) fueron identificadas mediante el sistema automatizado Vitek® 2 Compact system (Tarjeta GN, bioMérieux, Marcy l’Etoile, France), que también se utilizó para el estudio de sensibilidad (Tarjeta AST-249 ampicilina-sulbactam, cefazolina, cefuroxime, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, piperacilina-tazobactam, ertapenem, imipenem, meropenem, colistin, tigeciclina, trimetoprima-sulfametoxazol, gentamicina, amikacina) y para la detección de BLEE. El procesamiento de los aislamientos por Vitek® 2 Compact system se realizó en forma habitual, según las recomendaciones del fabricante.

La interpretación de los resultados de susceptibilidad para los antibióticos mencionados se realizó según guías CLSI 2020 (29), con la excepción de colistin y tigeciclina que se interpretaron según EUCAST 2020 (32)

Se realizó control de calidad con cepas ATCC (*“American type culture collection”*), como es habitual en el laboratorio.

Posteriormente los aislamientos fueron congelados a -20°C, y aquellos con test de BLEE positivo se continuaron estudiando en el Departamento de Bacteriología y Virología para completar su estudio de susceptibilidad y caracterización molecular, como se especifica en los siguientes apartados.

Enterobacterias BLEE(+):

1)Ampliación del estudio de susceptibilidad:

Se ensayó la sensibilidad a fosfomicina y ceftazidime-avibactam, según se especifica a continuación:

Fosfomicina:

- **Disco-difusión** (disco Oxoid fosfomicina 200 ug con 50 ug glucosa-6-fosfato y Mueller Hinton Oxoid) para *E. coli*.
- **Dilución en agar** para el resto de las enterobacterias.
Breve descripción de agar dilución para fosfomicina: se prepararon placas de Mueller Hinton (Oxoid) con 50 ug/ml de glucosa -6-fosfato y las siguientes concentraciones finales de fosfomicina: 0,25-0,5- 1- 2-4-8-16-32-64-128 y 256 ug/ml, que se inocularon (multiinoculador de 32 pocillos) con 600 ul de una dilución 1:20 a partir de la suspensión estandarizada (turbidez de 0.5 escala McFarland) de cada cepa problema en solución salina fisiológica estéril. La lectura de los resultados se realizó a las 20 horas de incubación (35°C), según lo recomendado por EUCAST 2020 (32). La interpretación de los resultados se realizó también según EUCAST 2020 (32).
- Se utilizó la cepa *E. coli* ATCC 25922 como control de calidad en ambas metodologías.

Ceftazidime-avibactam: se ensayó mediante disco-difusión (disco conteniendo 30/20 ug y Mueller Hinton Oxoid), con interpretación según CLSI 2020 (29).

En la tabla 10 se resumen los métodos de estudio y puntos de quiebre utilizados para las pruebas de susceptibilidad.

Tabla 10: Resumen de métodos y puntos de quiebre utilizados para el estudio de susceptibilidad, bacteriemias por enterobacterias, 2014-2015, Hospital de Clínicas.

Antibiótico y metodología	Norma utilizada	Puntos de quiebre		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Ampicilina sulbactam (SAM) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤8/4 ug/ml	16/8 ug/ml	≥32/16 ug/ml
Piperacilina tazobactam (PTZ) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤16/4 ug/ml	32/4-64/4 ug/ml	≥128/4 ug/ml
Ceftazidime avibactam (CZA) Disco difusión	CLSI 2020	≥21 mm	---	≤20 mm
Cefazolina (CF) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤2 ug/ml	4 ug/ml	≥8 ug/ml
Cefuroxime (CXM)	CLSI 2020	≤8 ug/ml	16 ug/ml	≥32 ug/ml

Vitek 2 system®				
Cefotaxime (CTX) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤1 ug/ml	2 ug/ml	≥4 ug/ml
Ceftazidime (CAZ) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤4 ug/ml	8 ug/ml	≥16 ug/ml
Cefepime (FEP) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤2 ug/ml	4-8 ug/ml (SDD)	≥16 ug/ml
Ertapenem (ETP) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤ 0.5ug/ml	1 ug/ml	≥2 ug/ml
Imipenem (IMI) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤1 ug/ml	2 ug/ml	≥4 ug/ml
Meropenem (MER) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤1 ug/ml	2 ug/ml	≥4 ug/ml
Colistin (COL) Vitek 2 system®	EUCAST 2020	≤2 ug/ml	---	>2 ug/ml
Gentamicina (GM) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤4 ug/ml	8 ug/ml	≥16 ug/ml
Amikacina (AK) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤16 ug/ml	32 ug/ml	≥64 ug/ml
Ciprofloxacina (CIP) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤0.25 ug/ml	0.5 ug/ml	≥1 ug/ml
Trimetoprim sulfametoxazol (SXT) Vitek 2 system®	CLSI 2020	≤2/38 ug/ml	---	≥4/76 ug/ml
Fosfomicina (FOS) disco-difusión	EUCAST 2020	≥24mm	---	<24mm
Fosfomicina (FOS) dilución en agar	EUCAST 2020	≤32 ug/ml	---	>32 ug/ml
Tigeciclina* (TGC) Vitek 2 system®	EUCAST 2020 (punto de quiebre <i>E. coli</i> y <i>C. koseri</i>)	≤0.5 ug/ml	---	>0.5 ug/ml

*El punto de quiebre de EUCAST para tigeciclina en *E. coli* y *C. koseri* se aplicó para el resto de las enterobacterias. CLSI 2020: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. PA: Wayne Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020. EUCAST 2020: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2020. <http://www.eucast.org>

2) Investigación de genes de resistencia para BLEEs y determinantes de resistencia transferibles a quinolonas:

Se llevó a cabo mediante **reacciones de PCR** (reacción en cadena de la polimerasa) en tiempo final, que se complementó en algunos casos con secuenciación, como se detalla a continuación.

Extracción del ADN:

Para cada cepa problema se partió de un cultivo fresco (24 horas) y monomicrobiano en TSA. Se tomaron 2-3 colonias que se colocaron en tubo eppendorf con 200 ul de agua de calidad molecular (agua MQ). Tras vortexeado se colocó en termobloque (100°C) a ebullición durante 10 minutos con posterior enfriamiento a -20°C (4 minutos). Tras centrifugación (13.000 rpm, 10 minutos) se recogió el sobrenadante que se almacenó a -20°C.

Reacción básica de PCR:

Tabla 11: Receta básica para realización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Componentes de la mezcla (mix)	Concentración inicial	Concentración final	Volúmen para un tubo (volumen final: 25 ul)
Agua MQ	----	----	13.375 ul
Buffer	5X	1X	5ul
Magnesio	50mM	2mM	1ul
dNTPs (dNTP Set QIAGEN)	10mM	200 Um	0,5 ul
Cebador forward	10 mM	0.5 mM	1.25 ul
Cebadro reverso	10 mM	0.5 mM	1.25 ul
Enzima (Mango Taq polimerasa)	5 U/ul	0.025 U/ul	0.125 ul
ADN			2.5 ul

La preparación de la mezcla de PCR se realizó en cabina de limpieza mediante UV (UV-Cleaner Box Biosan), y el agregado del ADN fuera de la misma (en mesada). Para todas las reacciones de PCR realizadas se utilizó uno o más controles positivos por reacción y control de mezcla (22.5 ul de mezcla y 2.5 agua MQ en lugar de ADN).

Se utilizó el termociclador con gradiente térmico MultiGene OptiMax Thermal Cycler, LABNET y las condiciones de ciclado que se muestran en la figura 2.

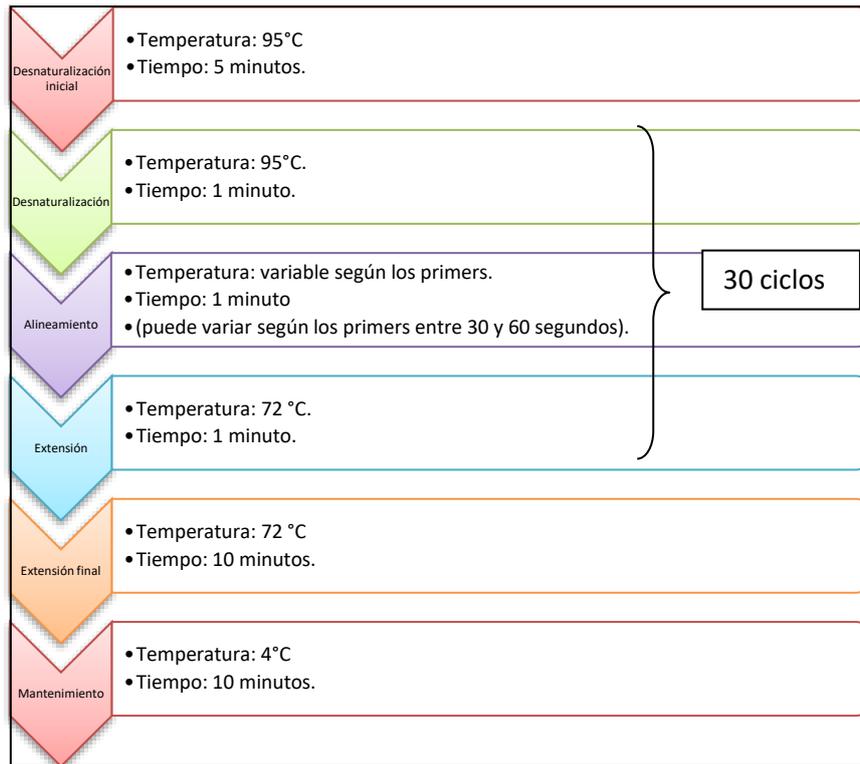


Figura 2: Esquema de las condiciones estándar de ciclado utilizadas para la PCR.

Visualización de los productos de PCR:

Para la visualización de los productos de PCR en este trabajo se procedió en la forma detallada a continuación (salvo alguna excepción que será debidamente especificada):

Los amplicones (productos de amplificación) se analizaron mediante **electroforesis en gel de agarosa al 1%** utilizando buffer TBE 0,5X (Tris base 89mM; ácido bórico 89mM; EDTA 25mM, pH 8). Se incluyó en cada corrida un marcador de peso molecular de 100 pb o 1kb (Hyperladder), seleccionándose en función del tamaño del amplicón esperado. El revelado se llevó a cabo con una solución de bromuro de etidio (0.5 µg/ml). Se utilizó transiluminador con luz UV y programa "PC Image" para obtención de imágenes.

-Determinación de genes de resistencia para BLEEs:

Se siguió el flujograma que se muestra en la figura 3, y se utilizaron los primers que se detallan en la tabla 12.

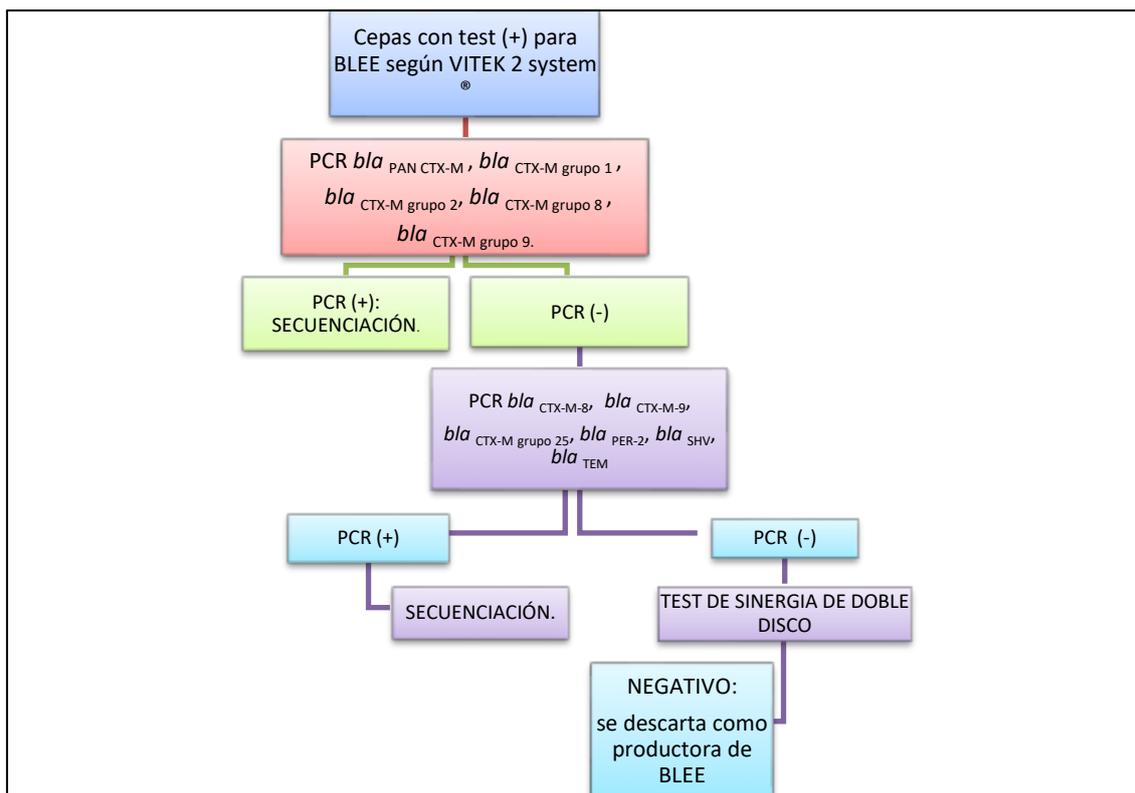


Figura 3: Flujo para la caracterización de los genes *bla*, bacteriemias por enterobacterias, Hospital de Clínicas, 2014-2015.

A todas las cepas con test fenotípico positivo para BLEE según Vitek system® se les realizó PCR para: *bla*_{PAN-CTX-M}, *bla*_{CTX-M- grupo 1}, *bla*_{CTX-M- grupo 2}, *bla*_{CTX-M- grupo 8} y *bla*_{CTX-M- grupo 9}. Aquellas cepas con resultado negativo para todas las PCR mencionadas se estudiaron mediante PCR para: *bla*_{CTX-M-8}, *bla*_{CTX-M-9}, *bla*_{CTX-M-grupo 25}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{SHV} y *bla*_{TEM}.

Tabla 12: Cebadores utilizados para las reacciones de PCR para genes *bla*.

Gen <i>bla</i>	Cebador	Secuencia 5' – 3'	Temperatura alineamiento PCR (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
PAN-CTX-M	PAN-CTX-M F	TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA	59	543
	PAN-CTX-M R	CGATATCGTTGGTGGTGCCATA		
CTX-M Grupo 1	CTX-M-1 F	CCCATGGTTAAAAAATCACTG	54	830
	CTX-M-1 R (AS)	CGTAGCCGGGCCCAACGTGA		
CTX-M Grupo 2	CTX-M-2 F	TTAATGATGACTCAGAGCATT	51	875
	CTX-M-2 R	GATACCTCGCTCCATTTATTGC		
CTX-M Grupo 8	CTX-M-3 F	ACCTGATTAACAATCCCAT	55	514
	CTX-M-3 R	ACTTTCTGCCTTCTGCTCTGGC		

CTX-M Grupo 9	CTX-M-4 F	GCTGGAGAAAAGCAGCGGAG	57	473
	CTX-M-4 R	GTAAGCTGACGCAACGTCTG		
CTX-M-8	CTX-M-8 F	TGAATACTTCAGCCACACG	50	922
	CTX-M-8 R	TAGAATTAATAACCGTCGGT		
CTX-M-9	CTXM-9 F	ATGGTGACAAAGAGARTGCAA	60	841
	CTXM-9 R	TTACAGCCCTTCGGCGATGAT		
CTX-M Grupo 25	CTX-M-25 F	AGAAAAAGCGTAAGGCGGGC	56	862
	CTX-M-25 R	CCGTCGGTGACAATTCTGGC		
SHV	SHV A	ATGATGAGCACCTTTAAAGTA	52	620
	SHV B	ATTCGCTCGGCCATGCTCGC		
TEM	OT3	ATGAGTATTCAAACTTTCCG	52	900
	OT4	CCACTGCTTAATCAGTGAGG		
PER-2	PER-2 F	TGTGTTTTACCGCTTCTGCTCTG	48	878
	PER-2 R	CAGCTCAAAGTATAAGCCGCTTG		

F: forward, R: reverse.

CTX-M grupo 1 incluye: CTX-M- 1, -3, -10, -12, -15.

CTX-M grupo 2: CTX-M-2, -4, -5, -6, -7, -20.

CTX-M grupo 8: CTX-M-8.

CTX-M grupo 9: CTX-M-9, -13, -14, -16, -17, -19, -21, -27.

CTX-M grupo 25: CTX-M-25, -26.

Aquellas cepas que nuevamente fueron negativas se sometieron a test fenotípico de sinergia de doble disco, detallado a continuación.

Test de sinergia de doble disco:

Partiendo de un cultivo fresco y monomicrobiano de la cepa problema se preparó una suspensión en solución salina fisiológica estéril (turbidez equivalente a 0.5 en escala McFarland) y se procedió a inocular el medio Mueller Hinton en forma confluyente. Se colocó en el centro disco de amoxicilina-clavulánico (20/10 ug de Oxoid) y a los lados (distancia de 2-2.5 cm centro a centro) discos de ceftriaxona (30 ug, Oxoid) y ceftazidime (30 ug Oxoid). Para enterobacterias naturalmente productoras de AmpC cromosómica se incluyó también disco de cefepime (30 ug Oxoid). Tras incubación por 20 horas (35°C) se procedió a leer los resultados. Resultado positivo: observación de ampliación del halo de inhibición de ceftriaxona, ceftazidime o cefepime en la proximidad al disco amoxicilina-clavulánico (sinergia +), o presencia de "zona fantasma" (inhibición del crecimiento) entre las cefalosporinas y el inhibidor. Resultado negativo: no se observa sinergia ni zona fantasma (12).

Procedimiento para secuenciación genes *bla*:

a-PCR: Las reacciones de PCR se realizaron en forma habitual pero con un volumen final por tubo de 50 ul (45 ul de mix PCR y 5 ul de ADN).

Tabla 13: Cebadores utilizados para la PCR y el envío para secuenciación genes *bla*.

	Cebadores para realización PCR.	Cebadores enviados para secuenciación.
CTX-M grupo 1	CTX-M-1 F y CTX-M-1 AS	PAN CTX-M F y PAN CTX-M AS
CTX-M grupo 2	CTX-M-2 F y CTX-M-2 R	PAN CTX-M F y PAN CTX-M AS
CTX-M grupo 3	CTX-M-8 F y CTX-M-8 R	CTX-M-3 F, CTX-M-3 R
CTX-M grupo 4	CTX-M-9 F y CTX-M-9 R	CTX-M-9 F y CTX-M-9 R y CTX-M-4 F y CTX-M-4 F
TEM	TEM OT3 y OT4	TEM OT3 y OT4
SHV	SHV tot F y SHV tot R	SHV A y SHV B

Las secuencias de los cebadores son los detallados en la tabla 12

b-Limpieza de amplicones: la purificación y concentración del ADN se realizó utilizando el kit comercial “DNA Clean & Concentrator™” (Zymo Research), siguiendo las instrucciones del fabricante.

c-Secuenciación: Se utilizó el servicio de secuenciación del Instituto Pasteur, Montevideo-Uruguay.

d-Análisis de las secuencias: se utilizó la aplicación Chromas versión 2.6.4 (technelysium) y la plataforma bioinformática Nucleotide BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Investigación de determinantes de resistencia transferibles a quinolonas:

Se investigó la presencia de los genes de resistencia transferibles más prevalentes: *qnrB* y *aac(6′)-Ib-cr*.

Investigación para *qnrB*:

Se realizó mediante PCR (ver receta básica en tabla 11), con los cebadores que se muestran en la tabla 14 a continuación.

Tabla 14: Cebadores para PCR *qnrB*

Gen	Cebador	Secuencia 5′ – 3′	Temperatura alineamiento PCR (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
<i>QnrB</i>	<i>qnrB f</i>	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG	52	469
	<i>qnrB r</i>	ACGACGCCTGGTAGTTGTCC		

Investigación para *aac(6′)-Ib-cr*.

Se realizó PCR para *aac* para todos los aislamientos y posteriormente para aquellos con resultado positivo restricción con *BseGI*.

PRC *aac*: se utilizó la receta previamente descrita y los cebadores que se muestran a continuación.

Tabla 15: Cebadores utilizados en la PCR para *aac*.

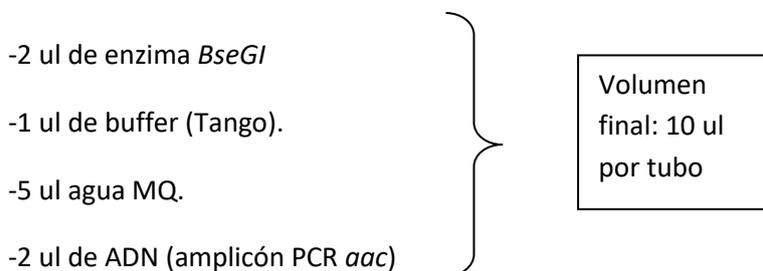
Gen	Cebador	Secuencia 5' – 3'	Temperatura alineamiento PCR (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
<i>aac</i>	<i>aac f</i>	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	55	481
	<i>aac r</i>	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT		

Se utilizaron las siguientes condiciones de ciclado: desnaturalización inicial 94°C 5 minutos, 30 ciclos con: 94°C por 40 segundos, 55°C 40 segundos, y 72°C 40 segundos, con extensión final 72°C por 10 minutos.

Además de los aislamientos problema se incluyeron cepas control de restricción con *BseGI* positivas y negativas (y el control de mezcla como es habitual).

Restricción *aac* con *BseGI*:

Para cada tubo de reacción se realizó la siguiente mezcla:



Posteriormente los tubos de reacción se incubaron en termobloque a 55 °C por 3 horas.

Corrida electroforética: gel de agarosa al **2%** - se cargó el volumen total del producto de restricción (10 ul) y 2 ul del producto de PCR *aac* sin digerir, para posibilitar la comparación de bandas y tamaños.

Interpretación de los resultados:

- ***aac-cr***: única banda de 500 pb (*BseGI* **no** digirió).
- ***aac no-cr***: bandas de 220 y 270 pb (*BseGI* digirió).
- ***aac-cr + aac no-cr***: bandas de 220, 270 y 500 pb.

3)Relación genética de especies prevalentes productoras de BLEE – herramientas de epidemiología molecular.

En el presente trabajo se empleó PFGE y MLST para el estudio de las especies **BLEE más prevalentes (*E.coli* y *K. pneumoniae*)**. Adicionalmente, para *E. coli* se determinó también el grupo filogenético

PFGE:

La técnica empleada en este trabajo es una adaptación de protocolo estándar PulseNet (112), y se describe brevemente a continuación.

Términos utilizados:

- BSC: buffer de suspensión celular.
- TE: Tris-EDTA
- SDS: dodecil sulfato de sodio.
- BL: buffer de lisis.
- EDTA: ácido etilendiaminotetraacético
- TBE: Tris borato-EDTA.

(Las fórmulas para preparación de los reactivos se detallan en el anexo 4).

1.Crecimiento bacteriano y armado de los bloques. Se partió de cultivos puros y frescos (24 horas) en medio no selectivo (Tripticasa Soja Agar). Para cada cepa problema se realizó suspensión en 3 ml de **BSC*¹** estéril que se ajustó con nefelómetro hasta una turbidez de 7,4 en la escala McFarland. Las suspensiones se mantuvieron en hielo hasta su utilización para el armado de los bloques. Para la cepa de referencia (marcador de tamaño molecular), *Salmonella Branderoup* se realizó igual procedimiento pero se ajustó a una turbidez de 8.4 en la escala McFarland.

Armado de los bloques (plugs): para cada cepa en estudio y *S. Branderoup* se preparó la siguiente mezcla (tabla 16) en eppendorf en flotación en baño 55°C:

Tabla 16: Mezcla utilizada para armado de los bloques de electroforesis en gel de campo pulsado para enterobacterias.

Componente de la mezcla para el armado de plugs	Volumen	Observación
Suspensión de la cepa problema en BSC	150 ul	---
Proteínasa K	7,5 ul	---
Agarosa termostatzada a 55°C	150 ul	Se empleó low melting, Pulse Field Certified TM Agarose BIO-RAD 1% con SDS (<i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>) → para un volumen de 25 ml: 0,25 gr

		agarosa + 2,5 ml SDS 10% + 22,5 ml buffer TE * ² .
--	--	--

La mezcla posteriormente se transfirió al peine de armado de plugs, dejándose solidificar a temperatura ambiente (20 minutos).

2.Lisis. Una vez solidificados, se transfirió cada bloque a tubo Falcon (50ml) conteniendo 2 ml de **buffer de lisis (BL** *³) + 25 ul de proteinasa K. Los bloques quedaron sumergidos en la solución de lisis durante 18 horas en baño 55°C con agitación.

3.Lavados. Cada bloque recibió 5 lavados de 15 minutos en baño 55°C con agitación, utilizando filtros BIO-RAD.

-2 lavados con 10 ml agua mili-Q (MQ), termostatizada a 55°C.

-3 lavados con 10 ml de **buffer TE** *², termostatizada a 55°C.

4.Restrictión. Cada bloque se cortó de un grosor de 2-3 mm y se colocó en tubo eppendorf conteniendo 200 ul de la mezcla de restricción que se detalla a continuación (tabla 17).

Tabla 17: Mezcla de la restricción para PFGE enterobacterias.

Mezcla de restricción PFGE enterobacterias.	Concentración inicial	Concentración final	X1
Buffer Tango (Thermo Scientific)	10X	1X	20 ul
Xbal (Thermo Scientific)	10 U/ µl	30 U	3 ul
Agua MQ estéril	---	---	177 ul
Volumen final	---	---	200 ul

La reacción de restricción se incubó a 37°C (termobloque Labnet) durante 18 horas (para el corte de la misma se aspiró la mezcla de restricción y se sustituyó con 200 ul de **TBE 0,5X***⁴).

5. Corrida electroforética. Se realizó mediante gel de agarosa low melting (Pulse Field Certified™ Agarose BIO-RAD) al 1% (1 gr agarosa en 100 ml TBE 0,5X) en el sistema CHEF de electroforesis, con las siguientes condiciones:

- Tiempo = 18 horas.
- Temperatura = 14°C.
- Voltaje = 6 v.
- Pulso inicial = 2.2 segundos.
- Pulso final = 54.2 segundos.

6. Revelado. La tinción del gel se realizó con bromuro de Etidio (1×10^{-3} mg/ml) durante 30 minutos con posterior lavado con agua mili-Q entre 10 - 15 minutos, con posterior visualización en transiluminador y fotografía con programa PC Image. Para el análisis y edición posterior se utilizó el programa Bionumerics (<http://www.appliedmaths.com/bionumerics>).

MLST.

Asignación de secuenciotipo:

Determinación de secuenciotipo para aislamientos de *K. pneumoniae*:

Se utilizó una estrategia combinada: PCR para *piIV* (113), (114) dado que su amplificación según lo reportado por Adler et al (113) se encuentra asociada con *K. pneumoniae* ST 258, y MLST.

En todos los aislamientos de *K. pneumoniae* (tanto BLEE positivos como negativos) se investigó el secuenciotipo ST258 mediante PCR para *piIV*. Aquellos con resultado positivo se consideraron pertenecientes al ST 258 y aquellos aislamientos BLEE(+) y *piIV* negativos se sometieron a MLST para determinar su secuenciotipo.

PCR para *piIV* (113), (114):

Tabla 18: Condiciones para la PCR para el gen *piIV*.

Mezcla para PCR <i>piIV</i>		Ciclado
Reactivo	Volumen	Desnaturalización inicial: 94°C, 5 minutos. Ciclado = 30 ciclos: 94°C 30 segundos, 53°C 30 segundos, 72°C 60 segundos. Extensión final: 72°C 10 minutos.
ADN	2.5 ul	
Buffer 10X	2.5 ul	
MgCl₂ 50mM	0.75 ul	
dNTPs 10mM	0.5 ul	
Taq pol 5U/ul	0.15 ul	
Primer Forward 10 mM	0.5 ul	
Primer Reverse 10 mM	0.5 ul	
Agua MQ	17.6	
Volumen final	25 ul	

Adaptado de: Adler A. et al. Development and validation of a multiplex PCR assay for identification of the epidemic ST-258/512 KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* clone (113).

Tabla 19: Cebadores empleados para la investigación del gen *piIV*.

Gen	Cebador	Secuencia 5' – 3'	Temperatura alineamiento PCR (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
<i>piIV</i>	piIV F	TGATGCTGATGGCAGACTGA	53	320
	piIV R	TGTAGTCACACCCTGCCCA		

MLST *K. pneumoniae*:

Se realizó mediante el análisis por secuenciación de los fragmentos internos de los siguientes genes *housekeeping*: *mdh*, *gapA*, *pgi*, *rpoB*, *phoE*, *tonB*, *infB*.

PCR: se realizó en forma convencional utilizando los cebadores que se muestran en la tabla 20.

Tabla 20: Cebadores utilizados para determinación del secuenciotipo en *K. pneumoniae* mediante MLST.

Gen	Cebador	Secuencia 5' – 3'	Temperatura alineamiento PCR (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
<i>Mdh</i>	mdh F	CCCAACTCGCTTCAGGTTTCAG	62	800
	mdh R	CCGTTTTTCCCAGCAGCAG		
<i>gapA</i>	gapA F	TGAAATATGACTCCACTCACGG	60	650
	gapA R	CTTCAGAAGCGGCTTTGATGGCTT		
<i>Pgi</i>	pgi F	GAGAAAAACCTGCCTGTACTGCTGGC	55	700
	pgi R	CGCGCCACGCTTTATAGCGGTTAAT		
<i>rpoB</i>	rpoB F	GGCGAAATGGCWGAGAACCA	59	1100
	rpoB R	GAGTCTTCGAAGTTGTAACC		
<i>phoE</i>	phoE F	ACCTACCGCAACACCGACTTCTTCGG	50	600
	phoE R	TGATCAGAAGTGGTAGGTGAT		
<i>tonB</i>	tonB F	CTTTATACCTCGGTACATCAGGTT	59	500
	tonB R	ATTCGCCGGCTGRGCRGAGAG		
<i>infB</i>	infB F	CTCGCTGCTGGACTATATTCG	50	450
	infB R	CGCTTTCAGCTCAAGAACTTC		

Limpieza de amplicones: se realizó con el kit comercial “DNA Clean & Concentrator™” (Zymo Research), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Secuenciación: Se utilizó el servicio de secuenciación del Instituto Pasteur, Montevideo-Uruguay.

Análisis: se utilizó la aplicación Chromas versión 2.6.4 (technelysium) y la plataforma bioinformática *Pasteur MLST Sequence query – Klebsiella locus/sequence definitions*. Disponible: https://bigsdbs.pasteur.fr/cgi-bin/bigsdbs/bigsdbs.pl?db=pubmlst_klebsiella_seqdef_public&page=sequenceQuery

Determinación de secuenciotipo para aislamientos de *E. coli* BLEE (+):

Se utilizó una estrategia combinada en aislamientos *E. coli* BLEE(+): PCR multiplex para secuenciotipos “exitosos” (ST 131, ST 95, ST 69, ST 73) descrita por Doumith M et al (115) y MLST.

Se realizó inicialmente PCR multiplex para todos los aislamientos BLEE(+) de *E.coli*, y para aquellos con resultado negativo (no correspondieron a ninguno de los ST investigados) se realizó MLST.

PCR multiplex ST “exitosos” *E. coli*.

La mezcla y condiciones de ciclado de la PCR multiplex para investigación de los secuenciotipos: ST 131, ST 95, ST 69, ST 73 en *E. coli* (115) se muestra en la tabla 21 y los cebadores en la tabla 22.

Tabla 21: Receta y condiciones de ciclado para la PCR multiplex ST“exitosos” *E. coli*.

Mezcla para PCR ST “exitosos” <i>E. coli</i>		Ciclado
Reactivo	Volumen	Desnaturalización inicial: 94°C, 3 minutos. Ciclado = 30 ciclos: 94°C 30 segundos, 60°C 30 segundos, 72°C 30 segundos. Extensión final: 72°C 5 minutos.
ADN	2 ul	
Buffer 10X	2.5 ul	
MgCl2 25mM	2 ul	
dNTPs 10mM	0.5 ul	
Taq pol 5U/ul	0.125 ul	
Primer Forward 69 10 mM	0.5 ul	
Primer Reverse 69 10 mM	0.5 ul	
Primer Forward 73 10 mM	0.5 ul	
Primer Reverse 73 10 mM	0.5 ul	
Primer Forward 95 10mM	0.5 ul	
Primer Reverse 95 10 mM	0.5 ul	
Primer Forward 131 10 mM	0.5 ul	
Primer Reverse 131 10 mM	0.5 ul	
Agua MQ	13.875 ul	
Volumen final	25 ul	

Adaptado de: Doumith M et al. Rapid identification of major Escherichia coli sequence types causing urinary tract and bloodstream infections (115)

Tabla 22: Cebadores utilizados en la PCR para ST “exitosos” *E. coli*.

ST	Cebador	Secuencia 5' – 3'	Tamaño del amplicón (pb)
69	69F	ATCTGGAGGCAACAAGCATA	104
	69R	AGAGAAAGGCGTTCAGAAT	
73	73F	TGGTTTTACCATTTTGTTCGGA	490
	73R	GGAAATCGTTGATGTTGGCT	
95	95F	ACTAATCAGGATGGCGAGAC	200
	95R	ATCACGCCATTAATCCAGT	
131	131F	GACTGCATTTTCGTCGCCATA	310

	131R	CCGGCGGCATCATAATGAAA	
--	------	----------------------	--

Adaptado de: Doumith M et al. Rapid identification of major Escherichia coli sequence types causing urinary tract and bloodstream infections (115)

Corrida electroforética: gel al **2%**

MLST *E. coli*.

Se realizó mediante el análisis por secuenciación de los fragmentos internos de los siguientes genes *housekeeping*: *adk*, *fumC*, *gyrB*, *icd*, *mdh*, *purA*, *recA*.

PCR: se realizó en forma convencional utilizando los cebadores que se muestran en la tabla 23.

Tabla 23: Cebadores utilizados para determinación del secuenciotipo en *E. coli* mediante MLST.

Gen	Cebador	Secuencia 5' – 3'	Temperatura alineamiento PCR (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
<i>icd</i>	icdF	ATGGAAAGTAAAGTAGTTGTTCCGGCACA	54	878
	icdR	GGACGCAGCAGGATCTGTT		
<i>recA</i>	recAF	CGCATTTCGCTTTACCCGTGACC	58	780
	recAR	TCGTGAAAATCTACGGACCGGA		
<i>Adk</i>	adkF	ATTCTGCTTGCGCTCCGGG	54	583
	adkR	CCGTCAACTTTCGCGTATTT		
<i>Mdh</i>	mdhF	AGCGCGTTCTGTTCAAATGC	60	932
	mdhR	CAGGTTCAGAACTCTCTGT		
<i>fumC</i>	fumCF	TCACAGGTCGCCAGCGCTTC	54	806
	fumCR	GTACGCAGCGAAAAAGATTC		
<i>gyrB</i>	gyrBF	TCGGCGACACGGATGACGGC	60	911
	gyrBR	ATCAGGCCTTCACGCGCATC		
<i>Pura</i>	purAF	CGCGCTGATGAAAGAGATGA	54	816
	purAR	CATACGGTAAGCCACGCAGA		

Limpieza de amplicones: se realizó con el kit comercial “DNA Clean & Concentrator™” (Zymo Research), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Secuenciación: Se utilizó el servicio de secuenciación del Instituto Pasteur, Montevideo-Uruguay.

Análisis: se utilizó la aplicación Chromas versión 2.6.4 (technelysium) y la plataforma bioinformática *Sequence query-Escherichia coli (Achtman) MLST locus/sequence definitions* disponible en:

https://pubmlst.org/bigssdb?db=pubmlst_ecoli_achtman_seqdef&set_id=4&page=sequenceQuery

Grupo filogenético para *E. coli* BLEE(+).

Se determinó el grupo filogenético (A, B1, B2 o D) de los aislamientos BLEE(+) mediante PCR multiplex, de acuerdo al trabajo de Clermont O et al (70) para genes *chuA*, *yjaA* y el fragmento génico *TspE4.C2*. En la tabla 24 y 25 se detallan las condiciones y cebadores utilizados.

Tabla 24: PCR multiplex para grupo filogenético *E. coli*.

Mezcla para PCR multiplex grupo filogenético <i>E. coli</i>		Ciclado
Reactivo	Volumen (x1 tubo de reacción)	Desnaturalización inicial: 95°C, 4 minutos. Ciclado = 30 ciclos: 94°C 5 segundos, 59°C 10 segundos, Extensión final: 72°C 5 minutos.
ADN	3 ul	
Buffer 10X	2 ul	
MgCl ₂ 25mM	3 ul	
dNTPs 10mM	0.5 ul	
Taq pol 5U/ul	0.25 ul	
Primer Forward <i>chuA</i> 10 mM	2 ul	
Primer Reverse <i>chuA</i> 10 mM	2 ul	
Primer Forward <i>yjaA</i> 10 mM	2 ul	
Primer Reverse <i>yjaA</i> 10 mM	2 ul	
Primer Forward <i>TspE4.C2</i> 10mM	2 ul	
Primer Reverse <i>TspE4.C2</i> 10 mM	2 ul	
Agua MQ	4.25	
Volumen final	25 ul	

Tomado de: Clermont O et al. Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group (70)

Tabla 25: Cebadores para PCR multiplex grupo filogenético *E. coli*.

	Cebador	Secuencia 5' – 3'	Tamaño del amplicón (pb)
<i>chuA</i>	<i>chuA</i> 1	GACGAACCAACGGTCAGGAT	279
	<i>chuA</i> 2	TGCCGCCAGTACCAAAGACA	
<i>yjaA</i>	<i>yjaA</i> 1	TGAAGTGTCAGGAGACGCTG	211
	<i>yjaA</i> 2	ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC	
<i>TspE4.C2</i>	<i>TspE4.C2</i> 1	GAGTAATGTCGGGGCATTCA	152
	<i>TspE4.C2</i> 2	CGCGCCAACAAAGTATTACG	

Tomado de: Clermont O et al. Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group (70)

Electroforesis en gel de agarosa al 2%, e interpretación según el esquema de Clermont et al (70) que se muestra a continuación en la figura 4.

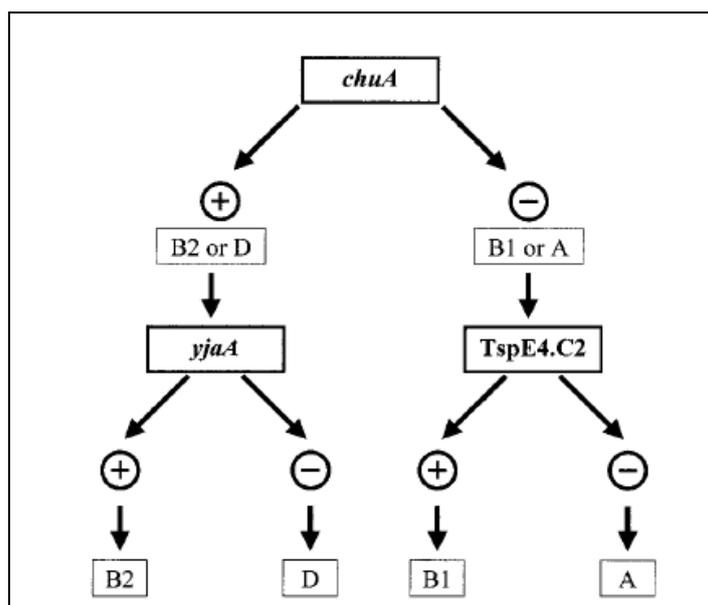


Figura 4: Flujograma para asignación de grupo filogenético en aislamientos de *E. coli* utilizando los resultados de la PCR para amplificación de los genes *chuA*, *yjaA* y el fragmento génico TSPE4.C2. Tomado de: Clermont O et al. *Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group* (70)

Análisis:

Análisis clínico:

Los datos clínicos se recolectaron a partir de los registros médicos (en formato papel), el sistema informático del laboratorio (Modulab) y el sistema informático del Hospital de Clínicas (Gestión Salud) utilizando una ficha prediseñada con dicho fin (referirse a Anexos – documento 3: Caracterización clínica-microbiológica y factores de riesgo de las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE en el Hospital Universitario. Ficha de recolección de datos clínicos-epidemiológicos).

Posteriormente la información se registró en una matriz de datos (Excel) y posteriormente se transfirió a una tabla en el programa IBM SPSS Statistics 23, para su análisis (ver más adelante: análisis estadístico).

Las variables analizadas se describen en el anexo 2.

Análisis estadístico:

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 23.

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 23.

1) Descriptivo:

Variables cuantitativas continuas:

Se sometieron a prueba de normalidad (Kolmogorov Smirnov para $n > 30$ observaciones); aquellas con distribución normal se expresaron como media \pm desvío estándar, y aquellas que no cumplieran con dicha distribución se expresaron como mediana y rango intercuartílico.

Variables cualitativas: se expresaron como frecuencia absoluta y relativa porcentual (%).

2) Analítico:

Variables cuantitativas continuas:

Aquellas con distribución normal (Kolmogorov Smirnov) se compararon mediante prueba T de Student, y aquellas que no cumplieran con dicha distribución se compararon mediante Prueba de Mann -Whitney.

Variables cualitativas: para su comparación se realizó test de Chi cuadrado o prueba exacta de Fisher (según correspondiera).

Un valor $p \leq 0.05$ fue considerado como significativo.

Análisis de casos y controles:

La fuerza de asociación estadística se midió a través del cálculo de los OR (razón de los productos cruzados). La razón de los productos cruzados y el intervalo de confianza al 95% (IC95%) se calcularon utilizando métodos estándares.

Las variables con valor $p \leq 0.05$ en el análisis univariado se incluyeron para el análisis multivariado, que se realizó por el **método de regresión logística**.

Un valor $p \leq 0.05$ se consideró como significativo.

RESULTADOS.

Primera parte: Aspectos Microbiológicos- aislamientos.

a)Generalidades.

En el período de estudio se registraron **174 episodios de bacteriemia por enterobacterias** (se incluyó solamente el primer episodio por paciente), con aislamiento de **178 enterobacterias**; 170 bacteriemias monomicrobianas y 4 episodios con aislamiento simultáneo de 2 enterobacterias diferentes (tabla 26).

Tabla 26: Episodios de bacteriemia con aislamiento de 2 enterobacterias en hemocultivo, Hospital de Clínicas 2014-2015.

Bacteriemias con aislamiento simultáneo de 2 enterobacterias en hemocultivos	Enterobacteria 1	Enterobacteria 2
1	<i>E. coli</i> (316)	<i>K.pneumoniae</i> (313)
2	<i>E.coli</i> (428)	<i>K. pneumoniae</i> (431)
3	<i>E. cloacae</i> (284)	<i>K. pneumoniae</i> (285)
4	<i>E. coli</i> (322)	<i>M. morgani</i> (321)

Entre () se muestra el número de identificación de la cepa.

En las 178 enterobacterias recuperadas, el equipo automatizado Vitek 2 system® reportó presencia de BLEE en 47 aislamientos; en **41/47 la presencia de BLEE fue confirmada** por métodos moleculares. Esta información se muestra en la figura 5 y la tabla 27.

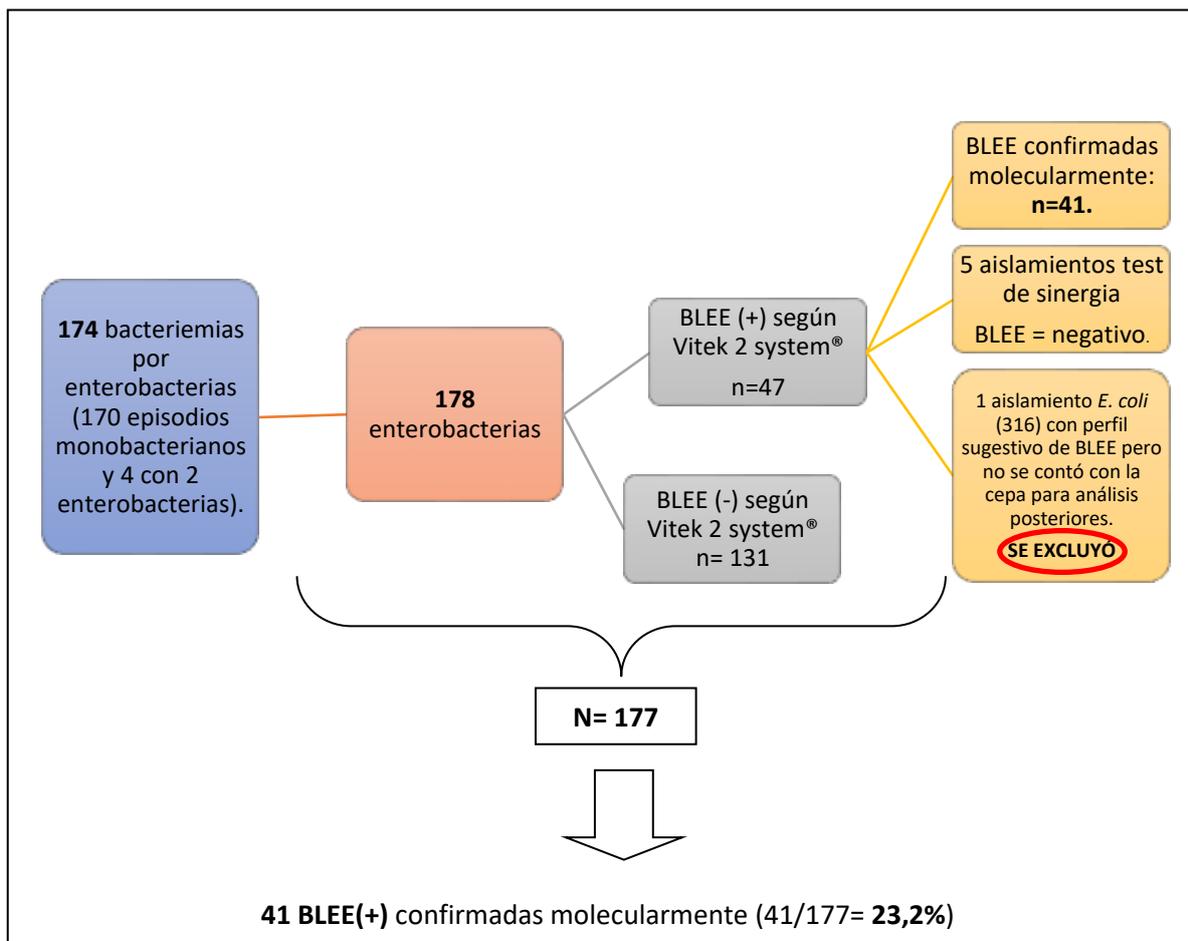


Figura 5: Episodios de bacteriemia por enterobacterias y distribución de los aislamientos según detección fenotípica (Vitek 2 system®) y molecular de BLEE. Hospital de Clínicas 2014-2015.

Tabla 27: Enterobacterias BLEE (+) según Vitek 2 system® sin confirmación fenotípica ni molecular, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015.

Especie de enterobacteria y número de cepa.	Sinergia BLEE de doble disco	CIM cefotaxime (ug/ml)	CIM ceftazidime (ug/ml)	CIM cefepime (ug/ml)	Resultados de PCR para genes <i>bla</i> investigados.
<i>E. coli</i> (310)	Negativa	≤ 1	≤ 1	≤ 1	<i>bla</i> _{CTX-M-grupo 1} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 2} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 8} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 9} (-) <i>bla</i> _{PER-2} (-) <i>bla</i> _{TEM} (-)

					<i>bla</i>_{SHV} (+) → SHV-1 por secuenciación.
<i>E. coli</i> (367)	Negativa	≤ 1	≤ 1	≤ 1	<i>bla</i> _{CTX-M-grupo 1} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 2} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 8} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 9} (-) <i>bla</i> _{PER-2} (-) <i>bla</i> _{SHV} (-) <i>bla</i>_{TEM} (+) → TEM-1 por secuenciación
<i>E. coli</i> (499)	Negativa	≤ 1	≤ 1	≤ 1	<i>bla</i> _{CTX-M-grupo 1} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 2} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 8} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 9} (-) <i>bla</i> _{PER-2} (-) <i>bla</i> _{SHV} (-) <i>bla</i>_{TEM} (+): TEM-1 por secuenciación.
<i>K. pneumoniae</i> (302)	Negativa	≤ 1	≤ 1	≤ 1	<i>bla</i> _{CTX-M-grupo 1} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 2} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 8} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 9} (-) <i>bla</i> _{PER-2} (-) <i>bla</i> _{TEM} (-)
<i>M. morgani</i> (405)	Negativa	4	4	8	<i>bla</i> _{CTX-M-grupo 1} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 2} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 8} (-) <i>bla</i> _{CTX-M-grupo 9} (-)

					<i>bla</i> _{PER-2} (-)
					<i>bla</i> _{SHV} (-)
					<i>bla</i> _{TEM} (-)

El aislamiento correspondiente a *E. coli* 316 (CIM cefotaxime, ceftazidime y cefepime ≥ 64 ug/ml) no estuvo disponible (cepa no viable), resultando imposible la confirmación y caracterización de su BLEE, por lo que se **excluyó de los análisis posteriores**.

En la tabla 28 se muestran los géneros y especies de enterobacterias recuperadas, distribuidas según presencia de BLEE (confirmada molecularmente) en el período de estudio (n=177).

Tabla 28: Distribución en frecuencia absoluta de las enterobacterias incluídas en el estudio, según género/especie y presencia de BLEE confirmada, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=177).

IDENTIFICACIÓN	BLEE CONFIRMADA		Total
	NO	SI	
<i>Escherichia coli</i>	62	7	69
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27	29	56
<i>Enterobacter cloacae</i>	13	1	14
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1	2
<i>Morganella morganii</i>	7	1	8
<i>Serratia marcescens</i>	5	2	7
<i>Proteus vulgaris</i>	2	0	2
<i>Citrobacter koseri</i>	1	0	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	0	4
<i>Salmonella sp</i>	7	0	7
<i>Citrobacter sp</i>	1	0	1
<i>Proteus mirabilis</i>	3	0	3
<i>Raoultella planticola</i>	1	0	1
<i>Providencia stuartii</i>	1	0	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0	1

Total	136	41	177
-------	-----	----	-----

(Se excluyó de esta tabla el aislamiento de *E. coli* 316)

b) Caracterización fenotípica y molecular de las enterobacterias BLEE(+):

b.1) Susceptibilidad antibiótica.

Tabla 29: Resumen de la susceptibilidad antibiótica en enterobacterias BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=41).

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente
Meropenem	41(100%)	---	---
Imipenem	40(97,6%)	---	1(2,4%)* ¹
Ertapenem	40(97,6%)	---	1(2,4%)* ²
Ceftazidime avibactam	41(100%)	---	---
Piperacilina tazobactam	11(26,8%)	13(31,7%)	17(41,5%)
Ampicilina sulbactam	---	1(2,4%)	40(97,6%)
Cefazolina	---	---	41(100%)
Cefuroxime	---	---	41(100%)
Cefotaxime	---	---	41(100%)
Ceftazidime	4(9,8%)	1(2,4%)	36(87,8%)
Cefepime	5(12,2%)	21(51,2%)	15(36,6%)
Amikacina	35(85,4%)	2(4,9%)	4(9,8%)
Gentamicina	25(36,6%)	---	26(63,4%)
Ciprofloxacina	5(12,2%)	4(9,8%)	32(78,0%)
Trimetoprim sulfametoxazol	8(19,5%)	---	33(80,5%)
Tigeciclina	12(29,3%)	---	29(70,7%)
Colistin	38(92,7%)	---	3(7,3%)* ³
Fosfomicina	41(100%)	---	---

Se muestran frecuencias absolutas y en (%) porcentajes.

Todos los antibióticos se testaron mediante equipo automatizado Vitek2 system® salvo:

-Fosfomicina - se testó mediante disco difusión en *E. coli* y dilución en agar en el resto de las enterobacterias.

-Ceftazidime/avibactam - se testó mediante disco difusión.

Todos los antibióticos se interpretaron según CLSI 2020, a excepción de: colistin, tigeciclina y fosfomicina que se interpretaron según EUCAST 2020.

Para cefepime la categoría "intermedio" corresponde en CLSI 2020 a "sensible dosis dependiente".

*1: El aislamiento resistente a imipenem correspondió a *M. morgannii* (514).

*2: El aislamiento resistente a ertapenem correspondió a *E. cloacae* (575).

*3: Los aislamientos resistentes a colistin correspondieron a *M. morgannii* (514) y 2 *S. marcescens* (373 y 566).

Gráfico 1: Susceptibilidad antibiótica en enterobacterias BLEE(+) en porcentaje, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015, (n=41).



CZA: ceftazidime-avibactam, MER: meropenem, FOS: fosfomicina, IMI: imipenem, ERTA: ertapenem, COL: colistin, AK: amikacina, GM: gentamicina, TGC: tigeciclina, PTZ: piperacilina-tazobactam, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol, FEP: cefepime, CIP: ciprofloxacina, CAZ: ceftazidime, SAM: ampicilina-sulbactam, CF: cefazolina, CXM: cefuroxime, CTX: cefotaxime.

A continuación se muestran los resultados de susceptibilidad encontrados según enterobacteria BLEE (+) y los perfiles de co-resistencia encontrados.

i) *E. coli*:

Tabla 30: Susceptibilidad antibiótica en aislamientos *E. coli* BLEE(+), bacteriemias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=7).

Número Cepa	Bla	CIM (µg/ml)								
		SAM	PTZ	CAZ	CTX	FEP	CIP	GM	AK	SXT
198	CTX-M-15	16 (I)	≤4 (S)	16 (R)	≥64 (R)	2 (S)	≥4 (R)	≤1 (S)	4 (S)	≤20 (S)
241	CTX-M-2	≥32 (R)	≥128 (R)	16 (R)	≥64 (R)	≥64 (R)	≤0,25(S)	4 (S)	≤2 (S)	≤20 (S)
273	CTX-M-2	≥32 (R)	64 (I)	4 (S)	≥64 (R)	≥64 (R)	≤0,25(S)	≤1 (S)	≤2 (S)	≥320 (R)
397	CTX-M-15	≥32 (R)	8 (S)	16 (R)	≥64 (R)	8 (SDD)	≤0,25(S)	4 (S)	4 (S)	≥320 (R)
412	CTX-M-15	≥32(R)	8 (S)	8 (I)	≥64 (R)	4 (SDD)	≥4 (R)	≤1 (S)	≤2 (S)	≥320 (R)
616	CTX-M-15	≥32 (R)	64 (I)	16 (R)	≥64 (R)	32(R)	≥4 (R)	≥16 (R)	4 (S)	≥320 (R)
637	CTX-M-15	≥32 (R)	≤4 (S)	4 (S)	≥64 (R)	4 (SDD)	≥4 (R)	≥16 (R)	4 (S)	≥320 (R)

En (I) se muestra la interpretación según CLSI 2020, S: sensible, I: intermedio, R: resistente, SDD: sensible dosis dependiente. En rosado: aislamientos resistentes, amarillo: intermedio o sensible dosis dependiente, celeste: aislamientos sensibles.

Todos los aislamientos resultaron sensibles a: ertapenem (CIM $\leq 0,5$ ug/ml), imipenem ($\leq 0,25$ ug/ml), meropenem (CIM $\leq 0,25$ ug/ml), colistin ($\leq 0,5$ ug/ml), tigeciclina ($\leq 0,5$ ug/ml), y fosfomicina.

Perfiles de co-resistencia a β -lactámicos en *E. coli* BLEE(+):

2 aislamientos **no-susceptibles** a ciprofloxacina/gentamicina/trimetoprim-sulfametoxazol (616 y 637).

1 aislamiento **no-susceptible** a ciprofloxacina/trimetoprim-sulfametoxazol (412).

2 aislamientos asociaron resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol exclusivamente (273 y 397).

1 aislamiento asoció resistencia a ciprofloxacina exclusivamente (198).

1 aislamiento no asoció resistencia a ninguno de los antibióticos no β -lactámicos testados (241).

3/7 aislamientos *E. coli* BLEE(+) fueron no-susceptibles a por lo menos un agente en tres o más familias de antibióticos (**multidrogo-resistentes**): 616, 637, 412.

ii) *K. pneumoniae*:

Tabla 31: Susceptibilidad antibiótica en aislamientos *K. pneumoniae* BLEE(+), bacteriemias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=29).

Número cepa	Bla	CIM ($\mu\text{g/ml}$)								
		CTX	CAZ	FEP	PTZ	CIP	GM	AK	SXT	TIGE
201	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	8 (SDD)	32 (I)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	≥ 8 (R)
226	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	8 (SDD)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≤ 1 (S)	≥ 64 (R)	≤ 20 (S)	2 (R)
227	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	8 (SDD)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≤ 1 (S)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	2 (R)
259	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	8 (SDD)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	1 (R)
280	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	16 (R)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	1 (R)
281	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	2 (S)	32 (I)	2 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	1 (R)
285	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	8 (SDD)	16 (S)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	1 (R)
309	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	8 (SDD)	32 (I)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	1 (R)
313	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	16 (R)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	1 (R)
348	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	8 (SDD)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≤ 1 (S)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	2 (R)
388	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	2 (S)	64 (I)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	8 (S)	40 (S)	1 (R)
393	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	4 (SDD)	≤ 4 (S)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	$\leq 0,5$ (S)
418	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	8 (SDD)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≤ 1 (S)	32 (I)	≥ 320 (R)	2 (R)
425	CTX-M-15 CTX-M-14	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	8 (SDD)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≤ 1 (S)	≤ 2 (S)	40 (S)	2 (R)
444	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	4 (SDD)	32 (I)	2 (R)	≥ 16 (R)	16 (S)	≥ 320 (R)	2 (R)
445	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	16 (R)	≥ 128 (R)	0,5 (I)	≥ 16 (R)	8 (S)	≥ 320 (R)	8 (R)
446	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	4 (SDD)	64 (I)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	4 (R)
480	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≥ 64 (R)	≥ 320 (R)	2 (R)
501	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	4 (SDD)	32 (I)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	4 (S)	≥ 320 (R)	1 (R)
515	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	4 (SDD)	≤ 4 (S)	$\leq 0,25$ (S)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	$\leq 0,5$ (S)
560	CTX-M-8 CTX-M-15	8 (R)	≤ 1 (S)	2 (S)	32 (I)	0,5 (I)	1 (S)	≤ 2 (S)	≤ 20 (S)	$\leq 0,5$ (S)
561	CTX-M-15	≥ 64 (R)	16 (R)	4 (SDD)	16 (S)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	8 (S)	≥ 320 (R)	$\leq 0,5$ (S)
583	CTX-M-15	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	≥ 64 (R)	≥ 128 (R)	≥ 4 (R)	≥ 16 (R)	≤ 2 (S)	≥ 320 (R)	4 (R)

608	CTX-M-15 CTX-M-14	≥64 (R)	≥64 (R)	32 (R)	≥128(R)	≥4 (R)	1 (S)	≤2 (S)	≥320(R)	2 (R)
628	CTX-M-15 CTX-M-14	≥64 (R)	≥64 (R)	16 (R)	≥128(R)	≥4 (R)	1 (S)	≤2 (S)	40 (S)	2 (R)
615	CTX-M-15	≥64 (R)	16 (R)	16 (R)	8 (S)	0,5 (I)	1 (S)	≤2 (S)	≥320(R)	1 (R)
632	CTX-M-15	≥64 (R)	16 (R)	4 SDD	32 (I)	2 (R)	≥16 (R)	8 (S)	≥320(R)	1 (R)
662	CTX-M-15	≥64 (R)	≥64 (R)	≥64 (R)	16 (S)	≤0,25(S)	≥16 (R)	≤2 (S)	≥320(R)	1 (R)

En (I) se muestra la interpretación según normas vigentes (más detalles referirse a sección metodología). En rosado: aislamientos resistentes, amarillo: intermedio o sensible dosis dependiente, celeste: aislamientos sensibles.

Perfiles de co-resistencia a β -lactámicos en *K. pneumoniae* BLEE(+):

- **17** aislamientos **no-susceptibles** (resistentes o intermedios) a: **ciprofloxacina, aminoglucósidos, trimetoprim-sulfametoxazol y tigeciclina**:
 - No-susceptibles a ciprofloxacina/gentamicina/trimetoprim-sulfametoxazol/tigeciclina: 13 aislamientos (201, 259, 280, 281, 285, 309, 313, 444, 445, 446, 501, 583, 632).
 - No-susceptibles ciprofloxacina/amikacina/trimetoprim-sulfametoxazol/tigeciclina: 3 aislamientos (226, 326,418).
 - No-susceptibles ciprofloxacina/gentamicina/amikacina/trimetoprim-sulfametoxazol/tigeciclina: 1 aislamiento (480).
- **4** aislamientos **no-susceptibles** a **ciprofloxacina, trimetoprim-fulfametoxazol, tigeciclina** (manteniéndose susceptibles a ambos aminoglucósidos: 227, 348, 608,615).
- **2** aislamientos **no-susceptibles** a **ciprofloxacina, gentamicina, trimetoprim-sulfametoxazol** (393, 561).
- **1** aislamiento **no-susceptible** a **ciprofloxacina, gentamicina, tigeciclina** (388).
- **1** aislamiento **no-susceptible** a **gentamicina, trimetoprim-sulfametoxazo, tigeciclina** (662).
- **2** aislamientos **no-susceptibles** **ciprofloxacina/tigeciclina** (425, 608).
- **1** aislamiento **no-susceptible** **gentamicina/trimetoprim-sulfametoxazol** (515).
- **1** aislamiento **no-susceptible** a **ciprofloxacina** (560).

28/29 aislamientos fueron **multidrogo-resistentes**; no susceptibles a por lo menos un agente en tres o más categorías antibióticas.

i) Otras enterobacterias BLEE(+):

Tabla 32: Susceptibilidad antibiótica en aislamientos de *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* y *Morganella morganii* BLEE(+), bacteriemias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=5).

N° cepa	bla	CIM (ug/ml)											
		CTX	CAZ	FEP	PTZ	ERTA	IMI	CIP	GM	AK	SXT	COL	TIGE
576	CTX-M-15	≥64 (R)	16 (R)	4 (SDD)	32 (I)	≤0,5 (S)	1 (S)	2 (R)	≥16 (R)	4 (S)	≥320 (R)	≤0,5 (S)	≤0,5 (S)

575	CTX-M-15	≥64 (R)	≥64 (R)	≥64 (R)	≥128 (R)	4 (R)	≤0,25 (S)	≥4 (R)	≥16 (R)	8 (S)	≥320 (R)	≤0,5 (S)	4 (R)
514	CTX-M-2	≥64 (R)	32 (R)	≥64 (R)	≤4 (S)	≤0,5 (S)	4 (R)	≥4 (R)	≥16 (R)	≥64 (R)	≥320 (R)	≥16 (R)	4 (R)
373	CTX-M-8	32 (R)	≤1 (S)	4 (SDD)	≥64 (R)	≤0,5 (S)	0,5 (S)	0,5 (I)	≥16 (R)	32 (I)	20 (S)	2 (R)*	2 (R)
566	SHV-5	8 (R)	16 (R)	≤1 (S)	≥64 (R)	≤0,5 (S)	0,5 (S)	≥4 (R)	≥16 (R)	16 (S)	80 (R)	≥16 (R)	4 (R)

Todos los aislamientos fueron sensibles a fosfomicina.

576: *C. freundii*, 575: *E. cloacae*, 514: *M. morgannii*, 373: *S. marcescens*, 566: *S. marcescens*.

En () se muestra la interpretación según normas vigentes (más detalles referirse a sección metodología). *Según EUCAST 2020 CIM colistin ≤2 ug/ml = sensible, en este caso el resultado se editó a resistente, por tratarse de una resistencia natural. En rosado: aislamientos resistentes, amarillo: intermedio o sensible dosis dependiente, celeste: aislamientos sensibles.

- Los 5 aislamientos mostraron un perfil MDR.

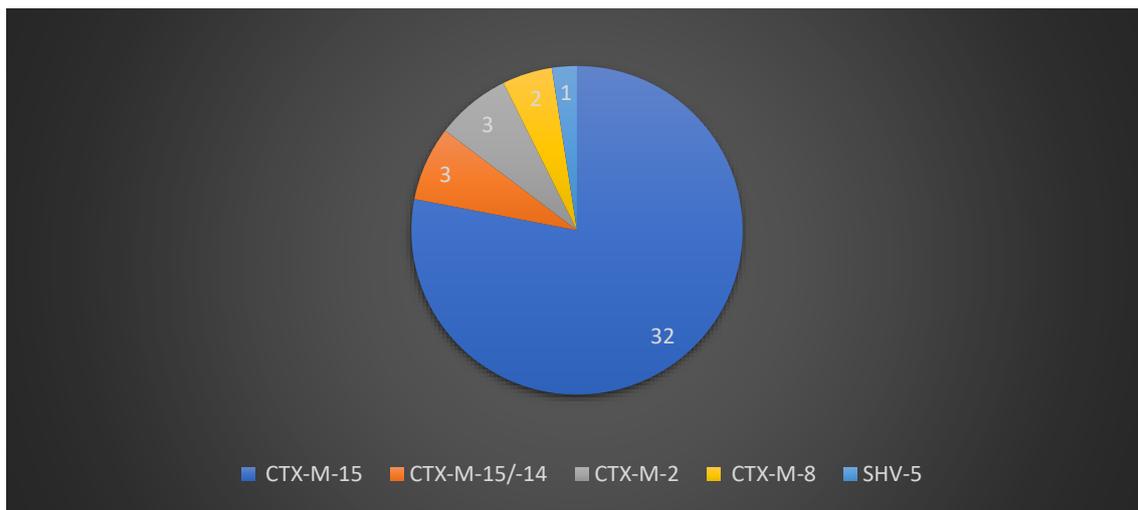
Co-resistencia en enterobacterias BLEE(+) – en suma: 36/41 (87,8%) enterobacterias BLEE(+) mostraron un perfil multidrogo-resistente (28 *K. pneumoniae*, 3 *E. coli* y 5 otras). La no-susceptibilidad simultánea a β-lactámicos / ciprofloxacina / aminoglucósidos y trimetoprim-sulfametoxazol se constató en 25 aislamientos (19 *K. pneumoniae*, 2 *E. coli*, 1 *C. freundii*, 1 *E. cloacae*, 1 *M. morgannii*, 1 *S. marcescens*).

b.2) Genes de resistencia de las β-lactamasas de espectro extendido.

Tabla 33: Genes *bla* encontrados, según especie de enterobacteria, Hospital de Clínicas, bacteriemias 2014-2015 (n=41).

Especie	Total aislamientos	Determinante <i>bla</i>	Número de aislamientos.
<i>K. pneumoniae</i>	29	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	25
		<i>bla</i> _{CTX-M-8}	1
		<i>bla</i> _{CTX-M-15} + <i>bla</i> _{CTX-M14}	3
<i>E. coli</i>	7	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	5
		<i>bla</i> _{CTX-M-2}	2
<i>S. marcescens</i>	2	<i>bla</i> _{CTX-M-8}	1
		<i>bla</i> _{SHV-5}	1
<i>M. morgannii</i>	1	<i>bla</i> _{CTX-M-2}	1
<i>C. freundii</i>	1	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	1
<i>E. cloacae</i>	1	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	1

Gráfico 2: Distribución, en frecuencia absoluta, de los aislamientos de enterobacterias BLEE(+) según BLEE detectada, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015, n=41.



b.3) Investigación de mecanismos de resistencia transferibles a quinolonas (TMQR): *qnrB* y *aac(6′)-Ib-cr* en enterobacterias BLEE(+).

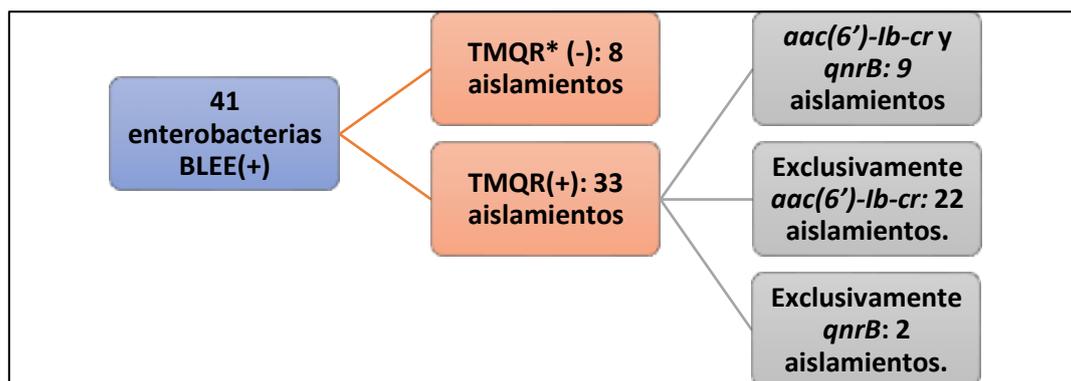


Figura 6: Resumen de TMQR (*qnrB* y *aac (6′)-Ib-cr*) encontrados en enterobacterias BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.

La tabla 34 muestra la distribución de aislamientos BLEE(+) en función de la CIM obtenida para ciprofloxacina.

Tabla 34: Distribución de aislamientos BLEE+ según CIM ciprofloxacina, bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.

CIM ciprofloxacina (ug/ml)	Número de aislamientos	%
≤ 0,25	5	12,2
0,50	4	9,8
2	4	9,8
≥4	28	68,3
Total	41	100

En 11 de los aislamientos (9 *K. pneumoniae*, 1 *E. cloacae* y 1 *C. freundii*) se detectó la presencia de *qnrB*. En la tabla 35 se muestra el cruce entre la presencia de *qnrB* y la CIM de ciprofloxacina

Tabla 35: Tabla cruzada CIM ciprofloxacina (ug/ml) y presencia de *qnrB* en enterobacterias BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015.

Aislamientos	CIM ciprofloxacina ug/ml				
	≤0,25	0,50	2,00	≥4,00	Total
<i>qnrB</i> (-)	4	3	1	22	30
<i>qnrB</i> (+)	1	1	3	6	11
Total	5	4	4	28	41

Investigación *aac(6')-Ib-cr*

La figura 7 muestra los resultados de la PCR para *aac(6')-Ib* y los resultados obtenidos tras la digestión en aquellos aislamientos positivos en la amplificación (32/41 = 75,6%).

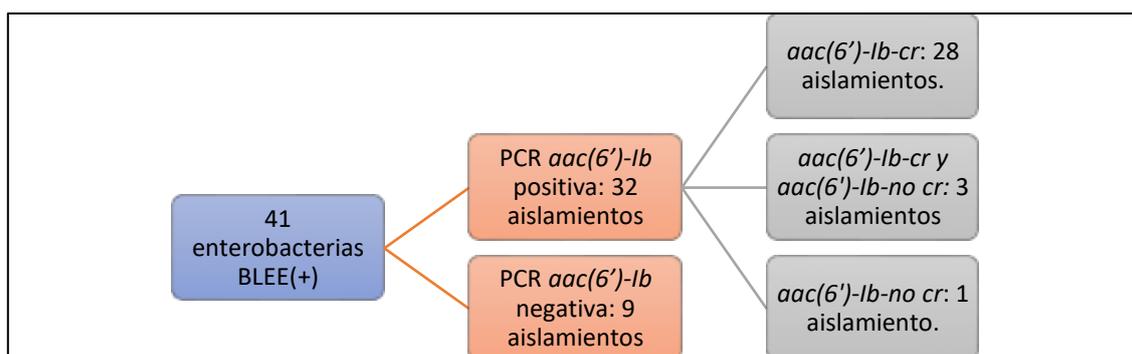


Figura 7: Distribución de las enterobacterias BLEE(+) según presencia de *aac(6')-Ib* y *aac(6')-Ib-cr*, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015.

Tabla 36: Tabla cruzada para resultado PCR *aac(6')-Ib* vs CIM amikacina, bacteriemias enterobacterias BLEE(+), Hospital de Clínicas 2014-2015.

		CIM amikacina VITEK (ug/ml)						Total
		≤2,00	4,00	8,00	16,00	32,00	≥64,00	
PCR <i>aac(6')-Ib</i>	NEGATIVA	5	1	1	1	1	0	9
	POSITIVA	17	5	4	1	1	4	32
Total		22	6	5	2	2	4	41

Se muestran frecuencias absolutas.

En la tabla 37 se muestra la distribución de la presencia de *aac(6')Ib-cr* según la CIM de ciprofloxacina.

Tabla 37: Distribución en frecuencia absoluta de los aislamientos *aac(6')-Ib-cr* positivos según la CIM de ciprofloxacina, bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.

	CIM ciprofloxacina (ug/ml)				Total
	≤0,25	0,50	2,00	≥4,00	
Aislamientos <i>aac(6')-Ib-cr</i> (+)	3	1	4	23	31

9 aislamientos fueron positivos para *aac(6')-Ib-cr* y *qnrB* simultáneamente. Las características de estos aislamientos se resumen en la tabla 38.

Tabla 38: Enterobacterias BLEE(+) con *aac(6')-Ib-cr* y *qnrB*, bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=9).

Número de cepa	Género/especie	Secuenciotipo	BLEE	CIM CIP ug/ml
281	<i>K. pneumoniae</i>	ST 716	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	2
285	<i>K. pneumoniae</i>	ST 258	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	4
348	<i>K. pneumoniae</i>	ST 258	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	4
388	<i>K. pneumoniae</i>	ST 45	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	4
480	<i>K. pneumoniae</i>	ST 258	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	4
632	<i>K. pneumoniae</i>	ST 393	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	2
662	<i>K. pneumoniae</i>	ST 48	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	0,25
576	<i>C. freundii</i>	///	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	2
575	<i>E. cloacae</i>	///	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	4

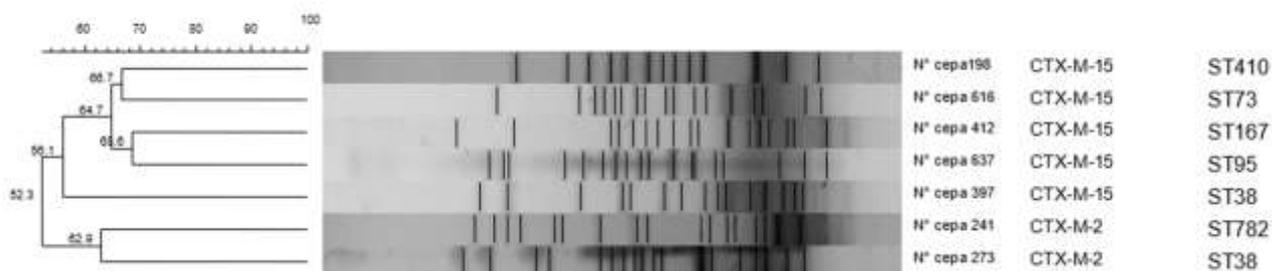
b.4) Relación clonal entre las especies bacterianas BLEE (+) más prevalentes.

***Escherichia coli* (n=7)**

Tabla 39: Genes *bla*, grupo filogenético, secuenciotipo y tipo de bacteriemia de *E. coli* BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=7).

Número de cepa	Tipo epidemiológico de bacteriemia	Determinante <i>bla</i>	Grupo filogenético	Secuenciotipo
198	Comunitaria	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	A	ST 410
241	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-2}	D	ST 782
273	Comunitaria	<i>bla</i> _{CTX-M-2}	D	ST 38
397	Sin dato	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	D	ST 38
412	Comunitaria	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	A	ST 167
616	Asociada a los cuidados de la salud	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	A	ST 73
637	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	B2	ST 95

Figura 8: Dendrograma de PFGE *E. coli* BLEE(+), bacteriemias 2014-2015, Hospital de Clínicas.



***Klebsiella pneumoniae* (n=29):**

Tabla 40: Determinantes *bla*, TMQR, secuenciotipo y tipo epidemiológico de bacteriemia en *K. pneumoniae* BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015.

Número cepa	Tipo epidemiológico de bacteriemia	Determinante <i>bla</i>	PMQR	Secuenciotipo
226		<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST258 (Pulsotipo C)
227	Asociada a cuidados de la salud	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST258 (Pulsotipo A)
280	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')lb-cr</i>	ST258 (Pulsotipo E)
285	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i> y <i>qnrB</i>	ST258 (Pulsotipo A)
309	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST258 (Pulsotipo D)
326	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST258 (Pulsotipo A)
348	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i> y <i>qnrB</i>	ST258 (Pulsotipo A)
418	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST258 (Pulsotipo A)
425	Comunitaria	<i>bla</i> _{CTX-M-15} + <i>bla</i> _{CTX-M14}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST258 (Pulsotipo A)
480	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i> y <i>qnrB</i>	ST258 (Pulsotipo B)
608	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15} + <i>bla</i> _{CTX-M14}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST258 (Pulsotipo A)
628	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15} + <i>bla</i> _{CTX-M14}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST258 (Pulsotipo A)
201	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST101
259	Asociada a cuidados de la salud	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	///	ST101
313	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST101
583	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST101
393	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST43
515	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST43
281	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i> y <i>qnrB</i>	ST716
388	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i> y <i>qnrB</i>	ST45
444	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST70
445	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST14
446	Asociada a cuidados de la salud	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST15
501	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-lb-cr</i>	ST309
560	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-8}	///	ST1964
561	Asociada a cuidados de la salud	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>qnrB</i>	ST25
615	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>qnrB</i>	ST471

632	Comunitaria	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-Ib-cr</i> y <i>qnrB</i>	ST393
662	Nosocomial	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>aac(6')-Ib-cr</i> y <i>qnrB</i>	ST48

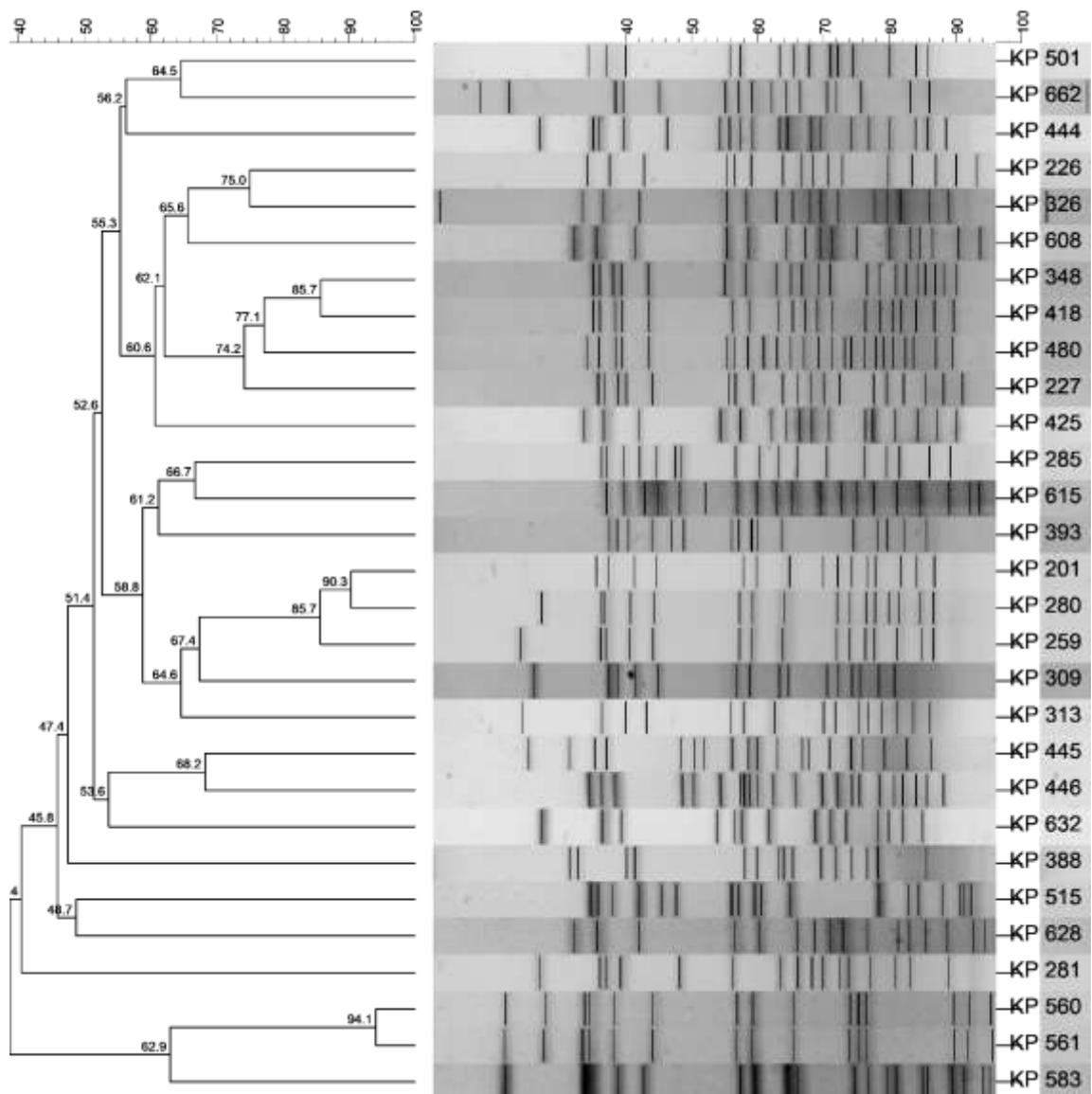
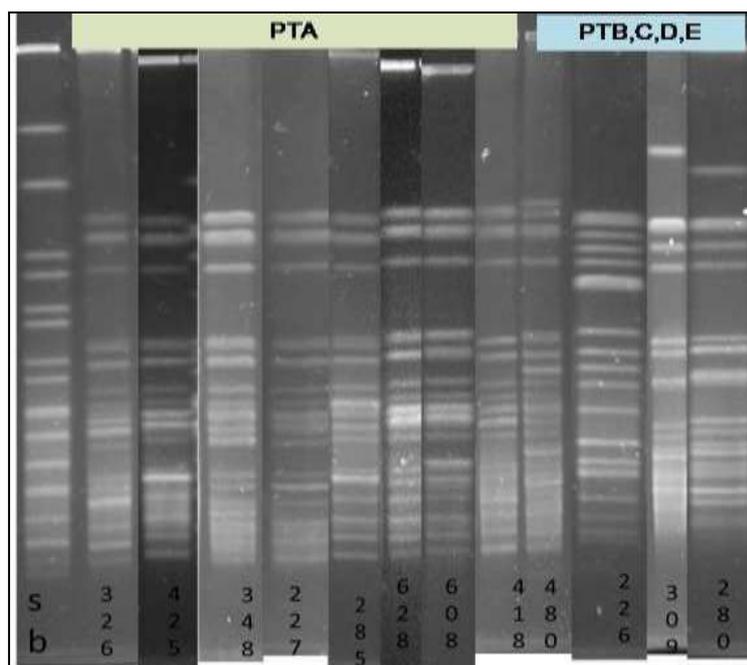


Figura 9: Dendrograma de PFGE *K. pneumoniae* BLEE(+), bacteriemias 2014-2015, Hospital de Clínicas.



Carril 1: *Salmonella branderoup*. Carril 1-13: *K. pneumoniae* BLEE ST258

Figura 10: Pulsotipos encontrados dentro del ST 258 *K. pneumoniae* BLEE(+), bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=12).

ST258 en *K. pneumoniae* BLEE(-):

Se investigó la presencia del ST258 (PCR pilV) entre los aislamientos de *K. pneumoniae* BLEE(-) (n=27); se detectó un aislamiento positivo (542), el cual correspondió a una bacteriemia clasificada como nosocomial.

Segunda parte: aspectos clínicos.

a) Generalidades.

La tabla 41 resume las principales características demográficas de la población incluida (n=174).

Tabla 41: Principales características demográficas de los pacientes con bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas, 2014-2015, (n=174).

Distribución según sexo.	89 hombres (49,7%)
	85 mujeres (47,5%).
Edad (años) Mediana y rango intercuartílico	61 y 22,5.
	Rango 18-87 años.
Procedencia de los pacientes (al momento de la obtención del hemocultivo).	Emergencia: 61 pacientes
	Internación: 108 pacientes.

	Sin dato: 5 pacientes.
--	------------------------

b)Análisis de casos y controles.

Para el análisis se revisaron registros médicos de 98 pacientes. Las principales características demográficas y clínicas de los pacientes se resumen en la tabla 42.

Test de normalidad para variables cuantitativas continuas: (Kolmogorov-Smirnov); mientras que leucocitosis siguió una distribución normal (0,183), edad (0,039), azoemia (0,000), creatininemia (0,000), neutrofilia (0,024) y días entre obtención hemocultivo y egreso (0,000) **no** siguieron dicha distribución.

Tabla 42: Características de los pacientes incluidos en el análisis casos-controles, bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).

Características demográficas.	Edad (años)	Mediana y rango intercuartílico: 62 y 20.
	Sexo masculino	54 (55,1%).
	Procedencia	Emergencia: 35 (36,1%)
		Internados: 62 (63,9%) <ul style="list-style-type: none"> • Medicina: 33 • Cirugía: 18 • CTI: 10 • Sin dato:1
	Sin dato: 1	
Comorbilidades	Enfermedad hematooncológica o neoplásica:	38 (40%) <ul style="list-style-type: none"> • Neoplasia del tubo digestivo: 15 • Neoplasia génitourinaria: 11 • Hemopatía maligna: 7 • Cáncer de pulmón: 3 • Otro: 2
	Inmunosupresión	15 (15,8%)
	Diabetes mellitus	32 (33,3%)

	Enfermedad renal crónica	24 (25%) <ul style="list-style-type: none"> • En hemodiálisis o DPCA: 5
	Hepatopatía	5 (5,2%)
	EPOC	8 (8,3%)
Factores modificantes de riesgo	Institucionalizado	4 (4,2%)
	Hospitalización 6 meses previos	42 (43,3%)
	Cirugía 6 meses previos	20 (20,6%)
	Infección/colonización enterobacteria BLEE 6 meses previos	13 (14,4%)
	Dispositivo médico a permanencia previo a la actual internación	21 (21,9%) <ul style="list-style-type: none"> • Urinario: 13 • Endovascular: 6 • Otros: 2
Aspectos relacionados al episodio de bacteriemia	Tipo epidemiológico de bacteriemia	Nosocomial: 60 (61,9%) Comunitaria: 29 (29,9%) Asociada a los cuidados de la salud: 8 (8,2%) Sin dato: 1
	Según producción de BLEE	BLEE(+):41(41,8%) BLEE(-):57 (58,2%)
	Según tipo de enterobacteria	<i>K. pneumoniae</i> :53 (54,1%) <i>E. coli</i> : 37(37,8%) <i>E. cloacae</i> :3(3,1%) <i>C. freundii</i> :1(1%) <i>M. morgani</i> :2(2%)

		<i>S. marcescens</i> :2(2%)
	Foco	Urinario: 43 (43,9%) Abdominal: 14 (14,4%) Respiratorio: 8 (8,2%) Endovascular: 6 (6,1%) Otro: 2 (2,0%). Sin foco evidente o datos insuficientes: 25 (25,5%)
	Score "quick Pitt"	<2: 75 (78,9%) ≥2: 20 (21,1%) Sin dato: 3
	Leucocitosis mil/mm ³	Media y DE: 13,46±8,46
	Neutrofilia mil/mm ³	Mediana y rango intercuartílico: 10,9 y 9,66
	Neutropenia	6 pacientes (6,3%)
Antibioticoterapia & outcome	Antibióticoterapia previa al hemocultivo durante la actual hospitalización.	Si: 40 (43%) No: 53 (57%) Sin dato: 5
	Más de un antibiótico previo al hemocultivo durante la actual hospitalización	27/40 (67,5%).
	Antibióticoterapia empírica por el episodio de bacteriemia	Si: 69 (79,3%) No: 18 (20,7%) Sin dato: 11
	Antibióticoterapia empírica activa	46/98 (46,9%)

	Días de internación entre obtención del hemocultivo y egreso	Mediana y rango intercuartílico: 19 y 26 días. Rango: 0-209
	Necesidad de CTI en la actual internación.	22 (23,4%)
	Status al egreso	Vivo: 80 (82,5%) Fallecido 17 (17,5%) Sin dato: 1

Se muestran frecuencias absolutas y (%válido).

CTI: Centro de terapia intensiva, DPCA: diálisis peritoneal continua ambulatoria, EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

En la tabla 43 se muestra el cruce etiología de la bacteriemia versus tipo epidemiológico de la misma. Se pudo determinar el tipo epidemiológico en 97/98 registros médicos revisados, en una la información fue insuficiente para poder clasificarla, por lo que se excluyó de la tabla cruzada.

Tabla 43: Tabla cruzada etiología de la bacteriemia por enterobacteria versus tipo epidemiológico de bacteriemia, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=97).

		TIPO DE BACTERIEMIA			Total
		BACTERIEMIA COMUNITARIA	BACTERIEMIA NOSOCOMIAL	BACTERIEMIA ASOCIADA CUIDADOS DE LA SALUD	
ENTEROBACTERIA	<i>E.coli</i>	22(75,9%)	12(20%)	2(25%)	36(37,1%)
	<i>K. pneumoniae</i>	7(24,1%)	40(66,7%)	6(75%)	53(54,6%)
	<i>E. cloacae</i>	0	3(5%)	0	3(3,1%)
	<i>C.freundii</i>	0	1(1,7%)	0	1(1,0%)
	<i>M. morgani</i>	0	2(3,3%)	0	2(2,1%)
	<i>S. marcescens</i>	0	2(3,3%)	0	2(2,1%)
Total		29 (100%)	60(100%)	8(100%)	97(100%)

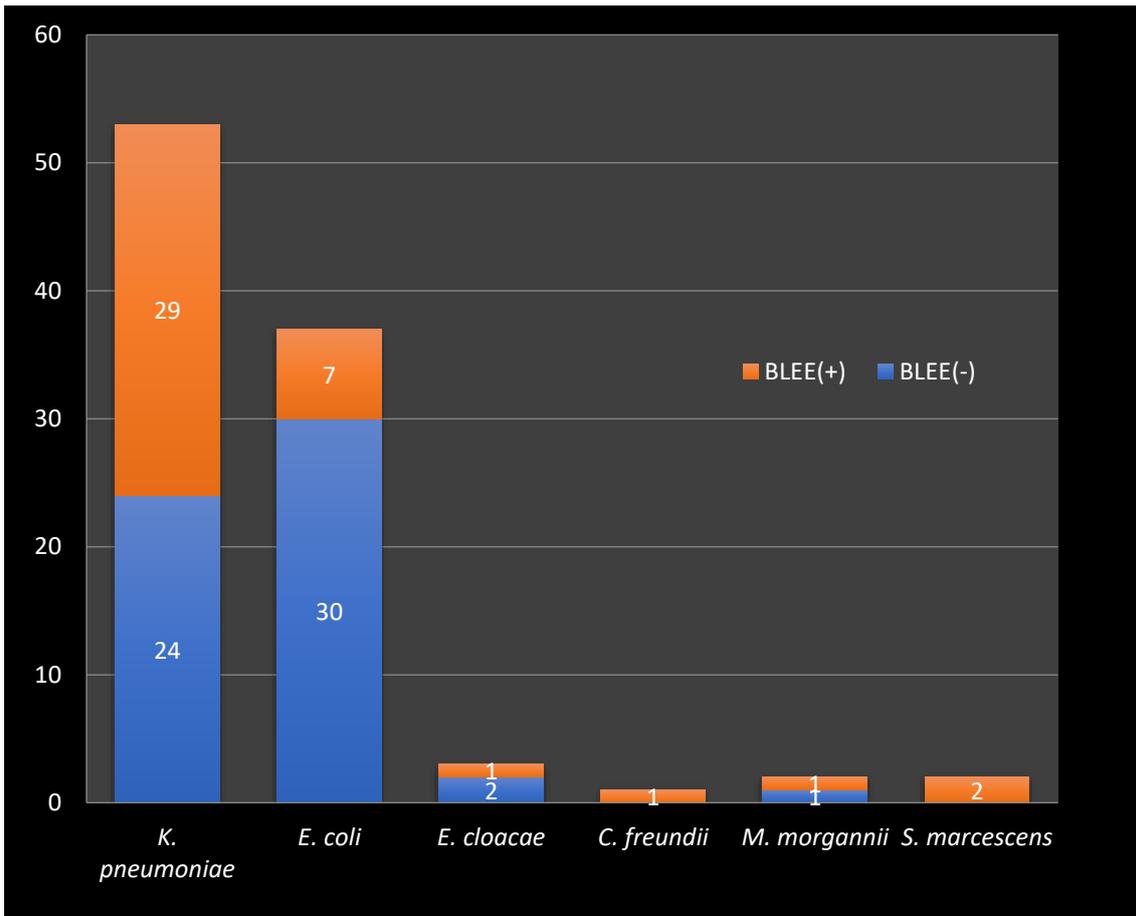
Se muestran frecuencias absolutas y (%) dentro de cada columna.

En la tabla 44 y la gráfica 3 se muestra la distribución, en frecuencia absoluta, según producción de BLEE, de la etiología de la bacteriemia de los pacientes incluidos en el análisis de casos y controles (n=98).

Tabla 44: Tabla cruzada etiología de la bacteriemia versus presencia de BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).

		BLEE CONFIRMADA		Total
		NO	SI	
ENTEROBACTERIA	<i>E. coli</i>	30	7	37
	<i>K. pneumoniae</i>	24	29	53
	<i>E. cloacae</i>	2	1	3
	<i>C. freundii</i>	0	1	1
	<i>M. morgani</i>	1	1	2
	<i>S. marcescens</i>	0	2	2
Total		57	41	98

Gráfico 3: Distribución (frecuencia absoluta) de las enterobacterias recuperadas, según producción de BLEE, en pacientes incluidos en el análisis de casos y controles, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015



La tabla 45 muestra el cruce presencia de BLEE versus tipo epidemiológico de bacteriemia, donde se incluyeron los 97 registros médicos donde ambos datos estaban disponibles (se excluyó un paciente con datos insuficientes para determinar el tipo epidemiológico de bacteriemia; n=97).

Tabla 45: Tabla cruzada presencia de BLEE versus tipo epidemiológico de bacteriemia, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=97).

		TIPO DE BACTERIEMIA			Total
		BACTERIEMIA COMUNITARIA	BACTERIEMIA NOSOCOMIAL	BACTERIEMIA ASOCIADA CUIDADOS DE LA SALUD	
BLEE	(-)	24	31	2	57
	(+)	5	29	6	40
Total		29	60	8	97

b.1) Factores de riesgo para bacteriemia por enterobacterias BLEE(+).

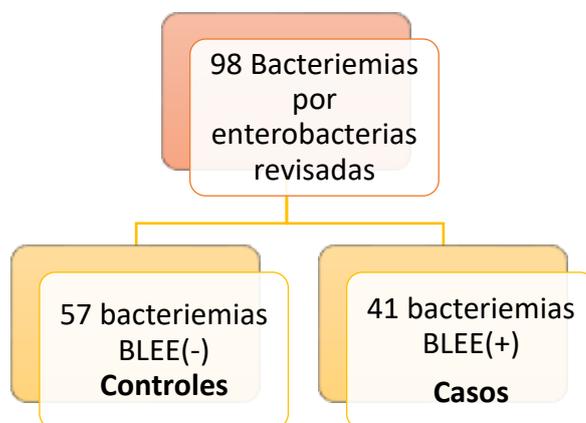


Figura 11: Distribución, en frecuencia absoluta y según producción de BLEE, de los pacientes con bacteriemia por enterobacterias incluidos en el análisis casos y controles, Hospital de Clínicas 2014-2015.

En la tabla 46 se muestran las características de los pacientes incluidos en el grupo de casos y controles, resaltándose con rojo aquellas variables que resultaron predictoras en el análisis univariado.

Tabla 46: Características de los pacientes en los grupos bacteriemia BLEE (+) y bacteriemia BLEE (-), Hospital de Clínicas 2014-2015, (n=98).

Variable	Grupo BLEE(-) (controles) N=57	Grupo BLEE(+) (casos) N=41	Significación (valor p) y estadístico	OR Análisis univariado	IC OR 95%
Características demográficas.					
Edad (años) Mediana y rango intercuartílico	63 y 17,5.	61 y 21.	0,443 Prueba de Mann-Whitney.	///	///
Sexo masculino	28/57(49,1%)	26/41(63,4%)	p=0,161 Chi ²	///	///
Procedencia internados	34/57(59,6%)	28/40(70%)	P=0,296 Chi ²	///	///
Comorbilidades.					

Enfermedad hematooncológica o neoplasia	19/55(34,5%)	19/40(47,5%)	P=0,203 Chi ²	///	///
Inmunosupresión	7/56(12,5%)	8/39(20,5%)	P=0,292 Chi ²	///	///
Diabetes mellitus	21/56(37,5%)	11/40(27,5%)	P=0,306 Chi ²	///	///
Enfermedad renal crónica	7/56(12,5%)	17/40(42,5%)	P=0,001 Chi²	5,17	LI:1,88 LS:14,21
DPCA o hemodiálisis	1/56(1,8%)	4/40(40%)	P=0,157 Test exacto de Fisher	///	///
Hepatopatía	1/56(1,8%)	4/40(40%)	P=0,157 Test exacto de Fisher	///	///
EPOC	7/56(12,5%)	1/40(2,5%)	P=0,134 Test exacto de Fisher	///	///
Factores modificantes de riesgo.					
Institucionalizado	1/56(1,8%)	3/40(7,5%)	P=0,305 Test exacto de Fisher	///	///
Hospitalización 6 meses previos	20/57(35,1%)	22/40(55%)	P=0,051 Chi ²	///	///
Cirugía en los 6 meses previos	7/57(12,3%)	13/40(32,5%)	P=0,015 Chi²	3,439	LI:1,226 LS:9,645
Infección o colonización por enterobacteria BLEE 6 meses previos	4/53(7,5%)	9/37(24,3%)	P=0,026 Chi²	3,938	LI:1,110 LS:13,965
Dispositivo médico a permanencia previo a la internación.	3/56(5,4%)	18/40(45%)	p<0,0001 Chi²	14,455	LI:3,863 LS:54,081
Antibioticoterapia durante internación, previamente al hemocultivo	19/55(34,5%)	21/38(55,3%)	P=0,047 Chi ²	2,341	LI:1,003 LS:5,461
β-lactámico durante internación, previamente al hemocultivo	18/55(32,7%)	19/38(50%)	P=0,094 Chi ²	///	///
Tratamiento durante internación con oximinocefalosporina* previamente al hemocultivo.	2/55(3,6%)	7/38(18,4%)	P=0,029 Test exacto de Fisher	5,984	LI:1,169 LS:30,625

*oximinocefalosporinas: cefalosporinas de 2da, 3ra o 4ta generación.

Variable	Grupo BLEE(-) (controles) N=57	Grupo BLEE(+) (casos) N=41	valor – p y estadístico	OR Análisis univariado	IC 95% OR
Presentación de la bacteriemia					
Score <i>qPitt</i> ≥2	10/56(17,9%)	10/39(25,6%)	P=0,360	///	///

			Chi ²		
Azoemia (mg/dl) Mediana y rango intercuartílico	47 y 51,2	60 y 58	0,208 Prueba de Mann- Whitney	///	///
Creatininemia (mg/dl) Mediana y rango intercuartílico	1,06 y 0,81	1,86 y 2,84	0,029 Prueba de Mann- Whitney	///	///
Leucocitosis (mil/mm³) Media y DE	12,34±7,05	15,03±9,99	P=0,148 T de Student IC95% LI:-0,98 LS:6,37	///	///
Bacteriemia no comunitaria	33/57(57,9%)	35/40(87,5%)	P=0,002 Chi²	5,091	LI:1,738 LS:14,909
Evolución					
Necesidad durante internación	CTI	12/55 (21,8%)	10/39(25,6%)	P=0,666 Chi ²	///
Días de internación entre obtención del hemocultivo y egreso Mediana y rango intercuartílico	14 y 17 días	22,5 y 19 días	Sig 0,006 Prueba de Mann- Whitney	///	///
Mortalidad intrahospitalaria	9/57(15,8%)	8/40(20%)	P=0,591 Chi ²	///	///

DE: desvío estándar, OR: *Odds ratio*, IC 95%: intervalo de confianza al 95%, LI: límite inferior, LS: límite superior, CTI: centro de terapia intensiva. EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Como se muestra en la tabla 47, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la proporción de los diferentes tipos de focos entre los grupos BLEE(+) y BLEE(-).

Tabla 47: Tabla cruzada para foco de la bacteriemia por enterobacteria versus producción de BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).

		BLEE CONFIRMADA		Total	
		NO	SI		
FOCO DE LA BACTERIEMIA	FOCO URINARIO	Recuento	21 _a	22 _a	43
		% dentro de BLEE CONFIRMADA	36,8%	53,7%	43,9%
	FOCO RESPIRATORIO	Recuento	7 _a	1 _a	8
		% dentro de BLEE CONFIRMADA	12,3%	2,4%	8,2%
	FOCO INTRA ABDOMINAL	Recuento	8 _a	6 _a	14
		% dentro de BLEE CONFIRMADA	14,0%	14,6%	14,3%
	CATÉTER ENDOVASCULAR	Recuento	3 _a	3 _a	6
		% dentro de BLEE CONFIRMADA	5,3%	7,3%	6,1%
	OTRO FOCO	Recuento	1 _a	1 _a	2

		% dentro de BLEE CONFIRMADA	1,8%	2,4%	2,0%
	SIN FOCO EVIDENTE O CON DATOS INSUFICIENTES	Recuento	17 ^a	8 ^a	25
		% dentro de BLEE CONFIRMADA	29,8%	19,5%	25,5%
Total		Recuento	57	41	98
		% dentro de BLEE CONFIRMADA	100,0%	100,0%	100,0%

Cada letra del subíndice denota un subconjunto de BLEE CONFIRMADA categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

Análisis multivariado (Regresión logística binaria).

Se incluyeron para el análisis multivariado las siguientes variables (covariables): **presencia de enfermedad renal crónica, cirugía en los 6 meses previos, infección/colonización por enterobacteria BLEE en los 6 meses previos, presencia de dispositivo médico a permanencia previo, antibioticoterapia previa al hemocultivo durante la actual internación, tratamiento con oximinocefalosporina previo al hemocultivo y presencia de bacteriemia no comunitaria**, para explicar el comportamiento de la variable dependiente (bacteriemia por enterobacteria BLEE). Se utilizó el método= *BACKWARD LR*.

El modelo logró explicar el 44% de la variabilidad de la variable dependiente (ver tabla 48)

Tabla 48: Resumen del modelo de regresión logística binaria – factores de riesgo BLEE.

Step	-2 Log likelihood	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square
1	76,155 ^a	,372	,503
2	76,174 ^a	,372	,502
3	76,705 ^a	,368	,497
4	78,313 ^a	,357	,481
5	80,235 ^a	,342	,461
6	81,911 ^a	,329	,444

a. Estimation terminated at iteration number 6 because parameter estimates changed by less than ,001.

Como se observa en la tabla 49, solo las variables **presencia de dispositivo médico a permanencia previo** ($p=0,001$, $OR=55,2$, $IC95\% 5,5 - 553$) y presencia de **bacteriemia no comunitaria** ($p=0,008$, $OR=17,4$, $IC 95\% 2,1-143$) resultaron factores de riesgo para bacteriemia por enterobacteria BLEE en el análisis multivariado.

Tabla 49: Variables en la ecuación regresión logística para investigación de factores de riesgo para bacteriemia por enterobacteria BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015.

	B	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)		
				Lower	Upper	
Step 1 ^a	CIRUGIA6M(1)	,192	,178	3,292	,582	18,611
	BLEEPREVIA(1)	,939	,232	2,558	,548	11,947

	DISPMEDICOPRE(1)	3,849	,002	46,963	3,893	566,495
	BANOCOM(1)	2,526	,025	12,507	1,363	114,770
	ATBPREHC(1)	,457	,478	1,579	,447	5,577
	OXIMINOPREHC(1)	1,125	,262	3,080	,432	21,960
	ERC(1)	-,121	,889	,886	,163	4,827
	Constant	-3,673	,001	,025		
	CIRUGIA6M(1)	1,197	,175	3,311	,586	18,700
	BLEEPREVIA(1)	,908	,228	2,479	,566	10,849
Step 2 ^a	DISPMEDICOPRE(1)	3,794	,002	44,435	4,156	475,046
	BANOCOM(1)	2,510	,025	12,311	1,366	110,956
	ATBPREHC(1)	,464	,469	1,591	,453	5,591
	OXIMINOPREHC(1)	1,099	,264	3,002	,436	20,678
	Constant	-3,669	,001	,025		
	CIRUGIA6M(1)	1,103	,200	3,012	,559	16,240
	BLEEPREVIA(1)	,936	,209	2,550	,591	10,999
Step 3 ^a	DISPMEDICOPRE(1)	3,711	,002	40,910	3,859	433,740
	BANOCOM(1)	2,668	,015	14,410	1,680	123,613
	OXIMINOPREHC(1)	1,325	,156	3,763	,602	23,515
	Constant	-3,564	,001	,028		
	CIRUGIA6M(1)	1,152	,171	3,164	,608	16,461
Step 4 ^a	DISPMEDICOPRE(1)	3,755	,002	42,729	3,969	460,031
	BANOCOM(1)	2,805	,010	16,522	1,961	139,208
	OXIMINOPREHC(1)	1,307	,158	3,693	,603	22,630
	Constant	-3,529	,001	,029		
	DISPMEDICOPRE(1)	3,876	,001	48,214	4,826	481,691
Step 5 ^a	BANOCOM(1)	2,771	,011	15,975	1,902	134,188
	OXIMINOPREHC(1)	1,148	,211	3,152	,522	19,026
	Constant	-3,350	,002	,035		
	DISPMEDICOPRE(1)	4,011	,001	55,226	5,515	553,037
Step 6 ^a	BANOCOM(1)	2,856	,008	17,384	2,102	143,787
	Constant	-3,317	,002	,036		

b.2) Factores de riesgo para mortalidad intrahospitalaria en pacientes con bacteriemia por enterobacterias.

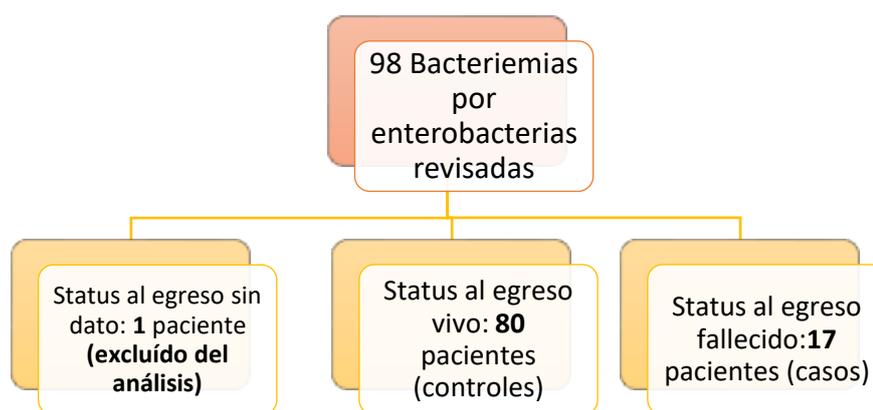


Figura 12: Distribución, en frecuencia absoluta y según status al egreso de los pacientes con bacteriemia por enterobacterias incluidos en el análisis casos y controles, Hospital de Clínicas 2014-2015.

En la tabla 50 se muestran las características de los pacientes incluidos en el grupo de casos y controles, resaltándose con rojo aquellas variables que resultaron predictoras en el análisis univariado.

Tabla 50: Características de los pacientes en el grupo status vivo al egreso y en el grupo status fallecido al egreso, incluidos en el análisis casos y controles para mortalidad intrahospitalaria, bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas 2014-201

Variable	Grupo: egreso vivo (controles) N=80.	Grupo: egreso fallecido (casos) N=17.	valor – p y estadístico	OR Análisis univariado	IC OR 95%
Características demográficas					
Edad (años) Mediana y rango intercuartílico	61 y 21	68 y 15,5	0,058 Prueba de Mann- Whitney	///	///
Sexo masculino	43/80(53,8%)	10/17(58,8%)	P=0,703 Chi ²	///	///
Comorbilidades y otros factores modificantes de riesgo					
Inmunosupresión	14/78(17,9%)	1/17(5,9%)	P=0,216 Chi ²	///	///
Enfermedad hematooncológica/ Neoplasia	27/78(34,6%)	10/16(62,5%)	P=0,038 Chi²	3,148	LI:1,033 LS:9,595
Diabetes mellitus	28/78(35,9%)	4/17(23,5%)	P=0,328 Chi ²	///	///
Enfermedad renal crónica	19/78(24,4%)	4/17(23,5%)	P=1 Prueba exacta de Fisher	///	///
Hepatopatía	3/78(3,8%)	2/17(11,8%)	P=0,217 Prueba exacta de Fisher	///	///
EPOC	7/78(9%)	1/17(5,9%)	P=1 Prueba exacta de Fisher	///	///
Cirugía en los 6 meses previos	19/79(24,1%)	1/17(5,9%)	P=0,112 Prueba exacta de Fisher	///	///
Infección o colonización por enterobacteria	8/73(11%)	5/16(31,3%)	P=0,053 Prueba exacta de Fisher	///	///

BLEE 6 meses previos					
Dispositivo médico a permanencia previo a la internación.	18/78(23,1%)	3/17(17,6%)	P=0,756 Prueba exacta de Fisher	///	///
Necesidad de CTI durante la internación.	13/77(16,9%)	9/17(52,9%)	P=0,003 Prueba exacta de Fisher	5,538	LI:1,801 LS:17,036
Características de la bacteriemia.					
Bacteriemia por enterobacteria BLEE+	32/80 (40%)	8/17(47,1%)	P=0,591 Chi ²	///	///
ScoreqPitt≥2	11/78(14,1%)	9/17(52,9%)	P=0,001 Prueba exacta de Fisher	6,852	LI:2,178 LS:21,557
Foco respiratorio	4/80(5%)	4/17(23,5%)	P=0,030 Prueba exacta de Fisher	5,846	LI:1,297 LS:26,347
Bacteriemia no comunitaria	55/80(68,8%)	13/17(76,5%)	P=0,771 Chi ²	///	///
Azoemia (mg/dl) Mediana y rango intercuartílico	45 y 55	61 y 71	0,236 Prueba de Mann-Whitney	///	///
Creatinemia (mg/dl) Mediana y rango intercuartílico	1,23 y 1,43	1,06 y 1,64	0,364 Prueba de Mann-Whitney	///	///
Leucocitosis (mil/mm ³) Media±DE	13,18±7,56	14,79±12,00	P=0,60 Prueba T	///	///
Neutropenia	4/79(5,1%)	2/17(11,8%)	P=0,287 Prueba exacta de Fisher	///	///
Recibió antibioticoterapia empírica	54/70(77,1%)	15/17(88,2%)	P=0,506 Prueba exacta de Fisher	///	///
Antibioticoterapia empírica activa	35/54(64,8%)	11/15(73,3%)	P=0,536 Chi ²	///	///
Días de internación entre obtención del hemocultivo y egreso	20 y 23 días	12 y 43 días	0,240 Prueba de Mann-Whitney		

Mediana y rango intercuartílico					
--	--	--	--	--	--

DE: desvío estándar, OR: *Odds ratio*, IC 95%: intervalo de confianza al 95%, LI: límite inferior, LS: límite superior. CTI: centro de terapia intensiva. EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Análisis multivariado (Regresión logística binaria).

Se incluyeron para el análisis multivariado las siguientes variables (covariables): presencia de enfermedad hematoológica/neoplásica, score *qPitt* ≥ 2 , necesidad de CTI durante la internación, foco respiratorio, para explicar el comportamiento de la variable dependiente (mortalidad intrahospitalaria). Se utilizó el método pasos sucesivos hacia atrás (razón de verosimilitud) para el análisis.

El modelo logró explicar el **33,9%** de la variabilidad de la variable dependiente, como se muestra en la tabla 51.

Tabla 51: Resumen del modelo de regresión logística binaria, factores de riesgo para mortalidad intrahospitalaria en pacientes con bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas 2014-2015.

Resumen del modelo			
Paso	Logaritmo de la verosimilitud - 2	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	62,958 ^a	,213	,353
2	63,958 ^a	,205	,339

a. La estimación ha terminado en el número de iteración 6 porque las estimaciones de parámetro han cambiado en menos de ,001.

Como se observa en la tabla 52, solo las variables **presencia de enfermedad hematooncológica/neoplasia** ($p= 0,026$, OR 4,687 IC95% 1,207-18,200) y **score qPitt ≥ 2** ($p= 0,001$, OR 10,332 IC95% 2,639-40,442) resultaron factores de riesgo para mortalidad intrahospitalaria en pacientes con bacteriemia por enterobacteria, en el análisis multivariado.

Tabla 52: Variables en la ecuación regresión logística para investigación de factores de riesgo para mortalidad intrahospitalaria en pacientes con bacteriemia por enterobacteria, Hospital de Clínicas 2014-2015.

		Wald	Sig.	OR	95% I.C. para OR	
					Inferior	Superior
Paso 1 ^a	Enf.hematooncológica o neoplasia(1)	5,373	,020	5,577	1,304	23,854
	Score qPitt(1)	1,839	,175	4,379	,518	36,999
	Necesidad CTI durante internación(1)	,995	,319	3,149	,331	29,998
	Foco respiratorio(1)	3,121	,077	4,760	,843	26,876
	Constante	23,375	,000	,030		
Paso 2 ^a	Enf.hematooncológica o neoplasia(1)	4,980	,026	4,687	1,207	18,200
	Score qPitt(1)	11,248	,001	10,332	2,639	40,442
	Foco respiratorio(1)	3,740	,053	5,472	,977	30,639
	Constante	24,346	,000	,036		

IC: intervalo de confianza. OR: *odds ratio*.

c) Antibioticoterapia y outcome en pacientes con bacteriemia por enterobacterias.

c.1) Antibióticoterapia durante la internación actual, previa a la obtención del hemocultivo.

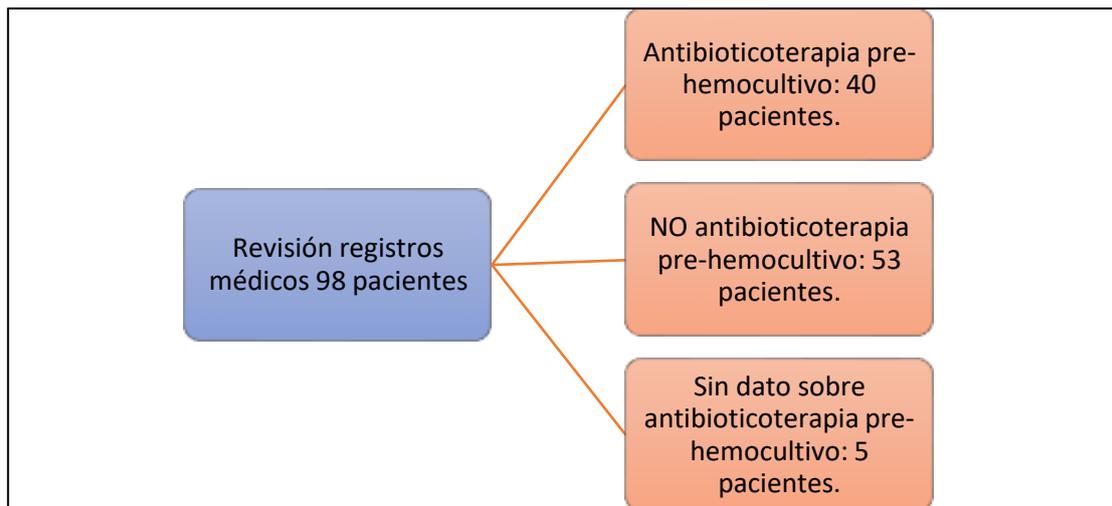
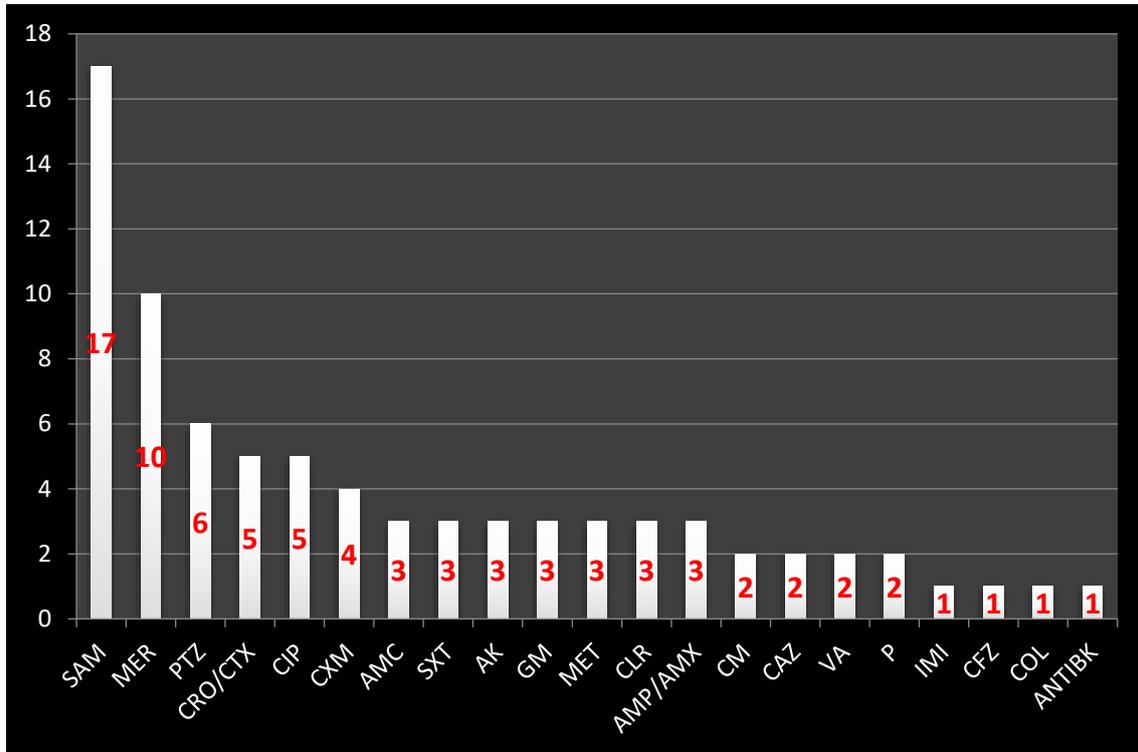


Figura 13: Distribución de los pacientes, en frecuencia absoluta, según antibioticoterapia durante la internación, previa a la extracción del hemocultivo, bacteriemia por enterobacterias, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).

- 40 pacientes recibieron antibioticoterapia durante la internación previamente a la recolección del hemocultivo y 27 de ellos recibieron más de un tipo de antibiótico (bien en forma simultánea o secuencial). Los antibióticos administrados se muestran en el gráfico 4.
- 37/40 pacientes recibieron algún β -lactámico.
- 5 pacientes recibieron ciprofloxacina, y todos ellos (5/5) recibieron también algún β -lactámico.

Gráfico 4: Distribución, en frecuencia absoluta, de los pacientes con bacteriemia por enterobacteria, según tipo de antibiótico recibido durante la internación, previo a la extracción del hemocultivo, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=40).



SAM: ampicilina-sulbactam, MER: meropenem, PTZ: piperacilina-tazobactam, CRO: ceftriaxona, CTX: cefotaxime, CIP: ciprofloxacina, CXM: cefuroxime, AMC: amoxicilina-clavulánico, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol, AK: amikacina, GM: gentamicina, MET: metronidazol, CLR: claritromicina, AMP: ampicilina, AMX: amoxicilina, CM: clindamicina, CAZ: ceftazidime, VA: vancomicina, P: penicilina, IMI: imipenem, CFZ: cefazolina, COL: colistin, ANTIBK: tratamiento antituberculosis.

c.2)Antibióticoterapia empírica:

69 pacientes recibieron antibioticoterapia empírica por el episodio de bacteriemia; 48 monoterapia y 21 recibieron más de un antibiótico (en forma **simultánea o secuencial**).

La información sobre los antibióticos empíricos administrados se muestra en el gráfico 5.

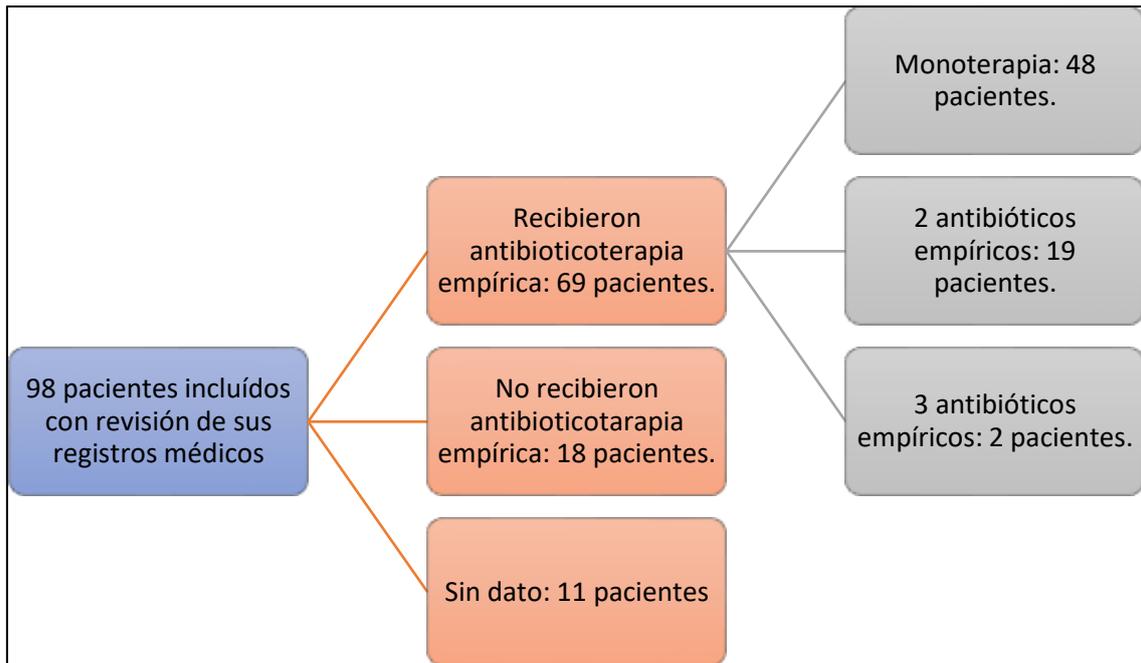
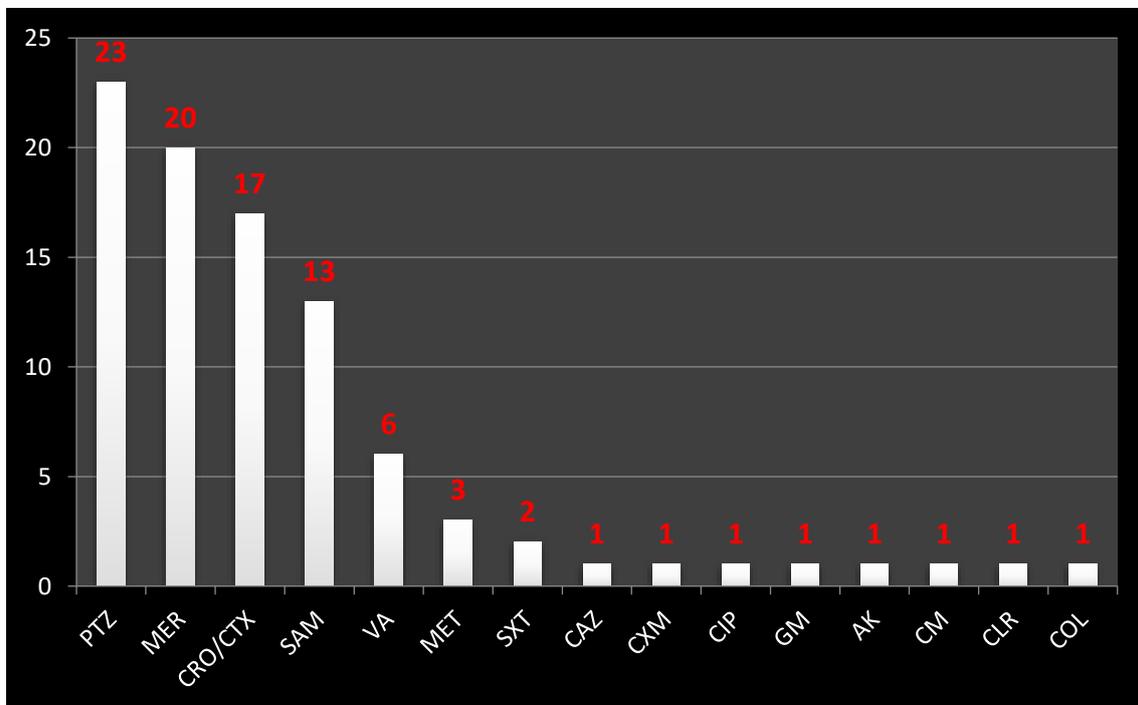


Figura 14: Distribución, en frecuencia absoluta, de los pacientes según presencia y número de antibióticos administrados empíricamente para la bacteriemia, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).

Gráfico 5: Distribución, en frecuencia absoluta, de los pacientes con bacteriemia por enterobacteria que recibieron antibioticoterapia empírica, según tipo de antibiótico recibido, Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=69).



PTZ: piperacilina-tazobactam, MER: meropenem, CRO/CTX: ceftriaxona/cefotaxime, SAM: ampicilina-sulbactam, VA: vancomicina MET: metronidazol, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol, CAZ: ceftazidime, CXM: cefuroxime, CIP: ciprofloxacina, GM: gentamicina, AK: amikacina, CM: clindamicina, CLR: claritromicina, COL: colistin.

Actividad del tratamiento antibiótico empírico versus presencia de BLEE.

Se comparó la actividad del tratamiento antibiótico empírico en pacientes con aislamientos BLEE(+) y BLEE(-), incluyéndose en el análisis solo pacientes para los cuales la información de antibioticoterapia empírica estaba disponible (n=69). Esta información se muestra en el gráfico 6 y la tabla 53.

Gráfico 6: Actividad de la antibioticoterapia empírica para episodio de bacteriemia por enterobacteria, según producción de BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015, (n=69).

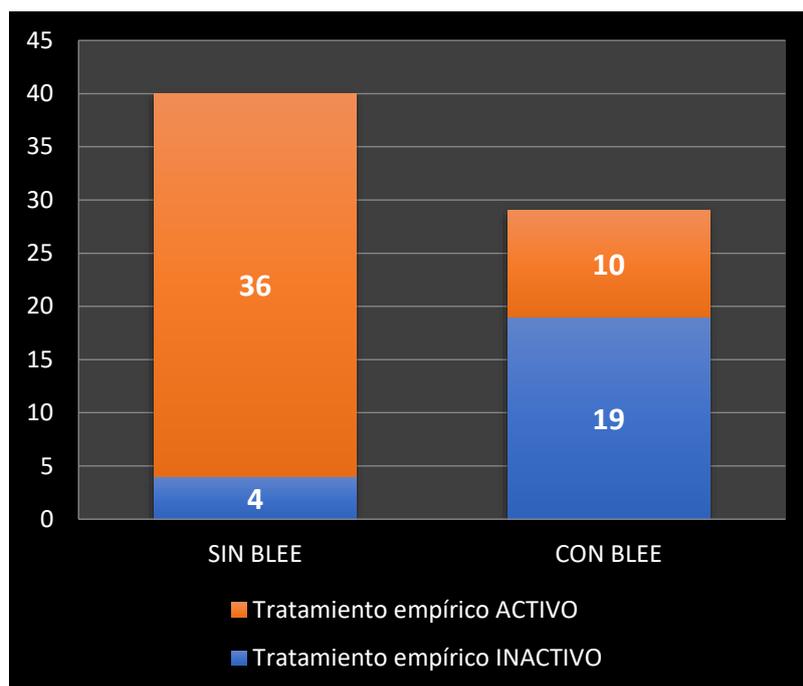


Tabla 53: Actividad de la antibioticoterapia empírica para episodio de bacteriemia por enterobacteria, según producción de BLEE, Hospital de Clínicas 2014-2015, (n=69).

		PLAN ANTIBIÓTICO EMPÍRICO		TOTAL
		INACTIVO	ACTIVO	
Producción de BLEE	(-)	4 (10%)	36 (90%)	40 (100%)
	(+)	19 (65,5%)	10(34,5%)	29(100%)
TOTAL		23 (33,3%)	46 (60,7%)	69 (100%)
P <0,0001 (Chi²), OR 17,1 IC 95% 4,727 – 61,86				

En () se muestra el % para cada fila.

- El tratamiento resultó **activo in vitro** en: 10/29(34,5%) pacientes en el grupo BLEE(+)
y en 36/40 BLEE(-) (90%).
- Se encontró que la presencia de **BLEE** se asoció en forma estadísticamente significativa con antibioticoterapia empírica **inactiva** ($p < 0,0001$), y que el riesgo de recibir antibioticoterapia empírica inactiva es **17 veces mayor** en pacientes con aislamientos BLEE(+) con respecto a aquellos con aislamientos BLEE(-).

¿Qué antibióticos recibieron los pacientes cuyo plan empírico resultó INACTIVO?

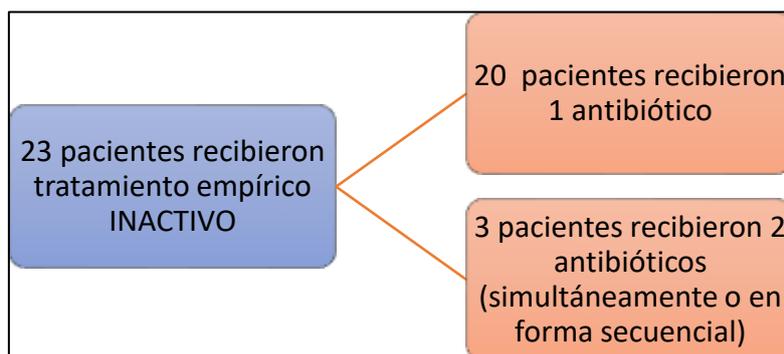


Figura 15: Distribución de los pacientes con antibioticoterapia empírica inactiva, según número de antibióticos recibidos, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=23).

En la tabla 54 se describen los antibióticos empíricos administrados en pacientes con terapia inactiva, versus la presencia de BLEE.

Tabla 54: Antibióticos en pacientes cuyo plan empírico resultó INACTIVO, estratificados según presencia de BLEE, bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.

Antibiótico	Bacteriemia BLEE(-)	Bacteriemia BLEE(+)	Total
Piperacilina-tazobactam	0	10	10
Ceftriaxona/cefotaxime	0	8	8
Ampicilina-sulbactam	4	2	6
Ceftazidime	0	1	1
Metronidazol	0	1	1

¿Qué antibióticos recibieron los pacientes cuyo plan empírico resulto ACTIVO?

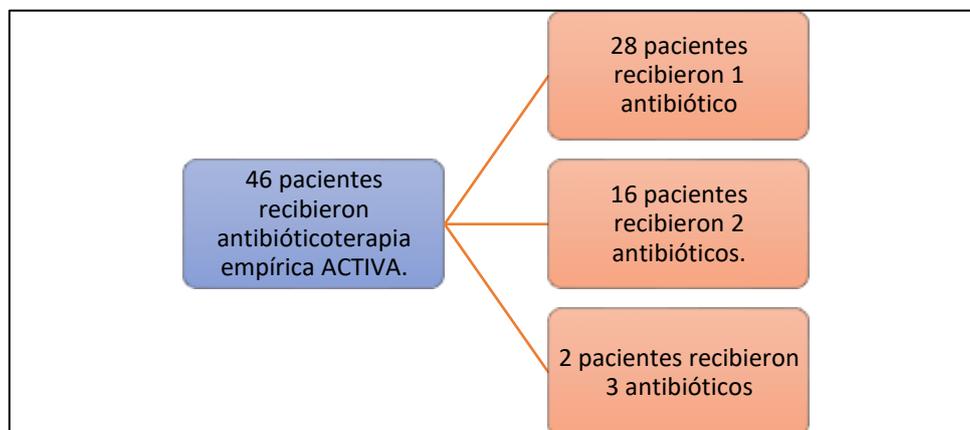


Figura 16: Distribución de los pacientes con antibioticoterapia empírica activa, según número de antibióticos recibidos, bacteriemias Hospital de Clínicas, 2014-2015 (n=46).

En la tabla 55 se describen los antibióticos empíricos administrados en pacientes con terapia activa, versus la presencia de BLEE (en caso de pacientes con más de un antibiótico administrado, solo se muestran aquellos antibióticos del plan con actividad anti Gram negativos).

Tabla 55: Antibióticos en pacientes cuyo plan empírico resultó ACTIVO, estratificados según presencia de BLEE, bacteriemias Hospital de Clínicas 2014-2015.

Antibiótico	BLEE (-)	BLEE(+)	Total
Meropenem	12	8	20
Piperacilina-tazobactam	11	2	13
Ceftriaxona/cefotaxime	9	0	9
Ampicilina-sulbactam	7	0	7
Trimetoprim-sulfametoxazol	2	0	2
Cefuroxime	1	0	1
Ciprofloxacina	1	0	1
Gentamicina	1	0	1

Amikacina	0	1	1
Colistin	0	1	1

Cambio en el tratamiento de la bacteriemia en función del resultado del hemocultivo.

En 55/98 (56,1%) pacientes se realizó un cambio en el tratamiento de la bacteriemia en función del resultado preliminar (examen directo) o definitivo (identificación y antibiograma) del hemocultivo.

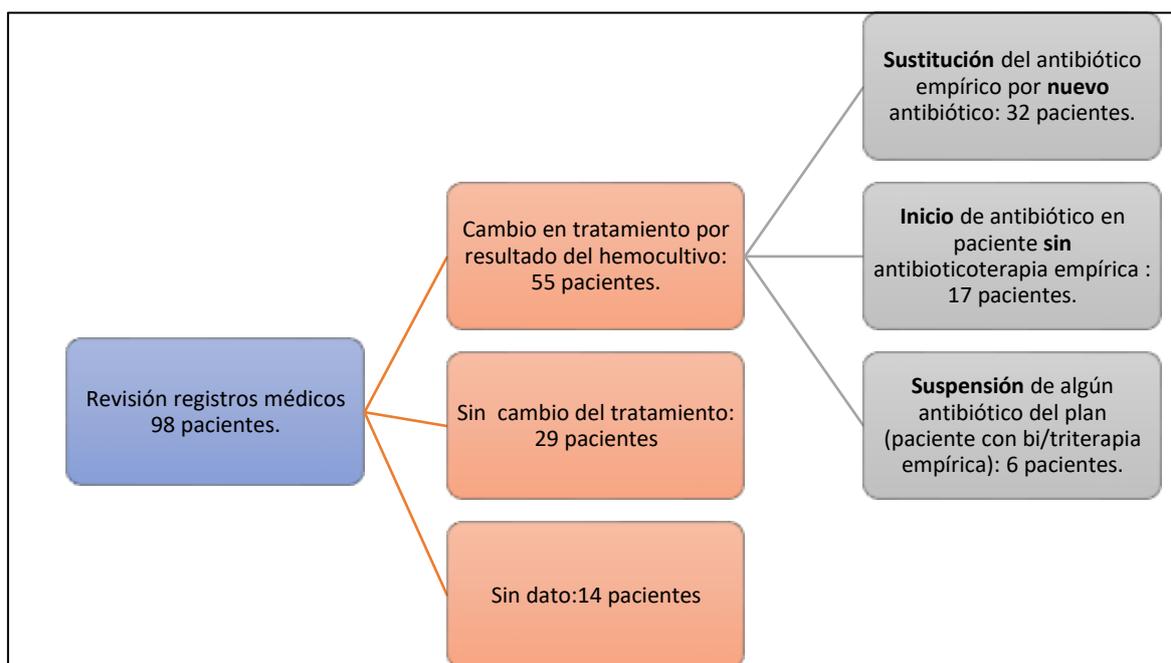
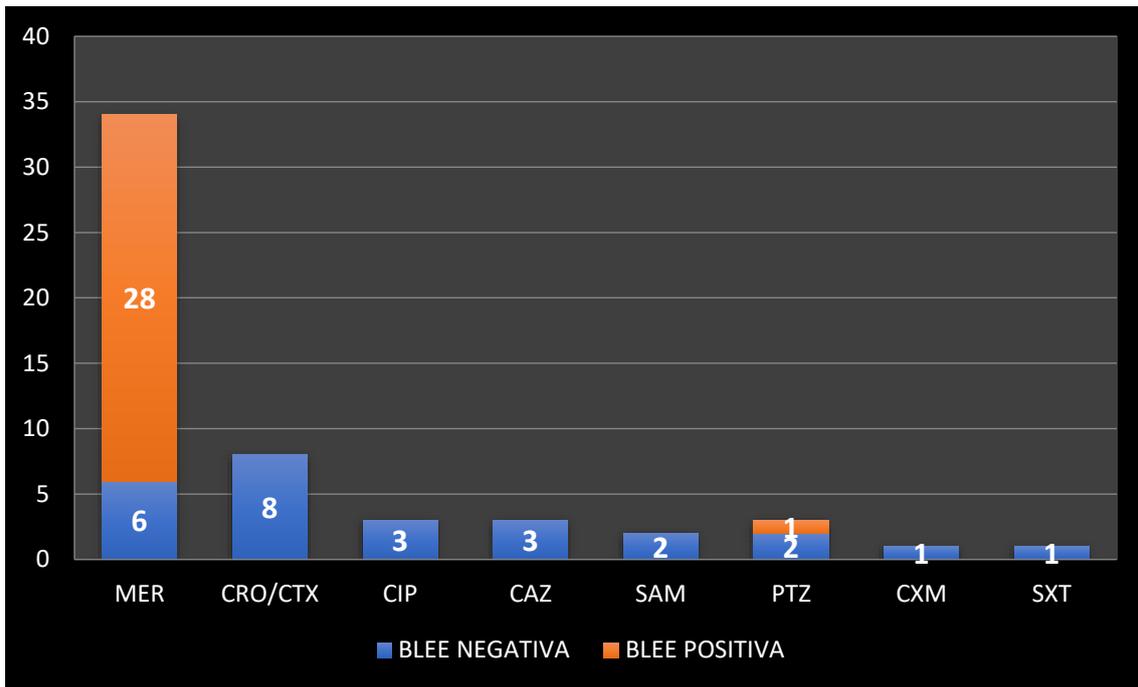


Figura 17: Distribución, en frecuencia absoluta, según cambio en el tratamiento en función del resultado del hemocultivo, de los pacientes con bacteriemia por enterobacteria, Hospital de Clínicas 2014-2015 (n=98).

En el gráfico 7 se muestra la nueva antibioticoterapia, ajustada en función del resultado del hemocultivo, y estratificada según presencia de BLEE, en pacientes con cambio en el tratamiento (n=55).

Gráfico 7: Nueva antibioticoterapia ajustada según resultado del hemocultivo, en frecuencia absoluta y estratificada según presencia de BLEE, bacteriemia por enterobacteria, Hospital de Clínicas 2014-2015.



MER: meropenem, CRO/CTX: ceftriaxona/cefotaxime, CIP: ciprofloxacina, CAZ: ceftazidime, SAM: ampicilina-sulbactam, PTZ: piperacilina-tazobactam, CXM: cefuroxime, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol.

DISCUSIÓN.

Aspectos microbiológicos en las bacteriemias por enterobacterias.

Etiología y producción de BLEE.

En nuestra serie, considerando globalmente todos los episodios de bacteriemia por enterobacterias (n=174 episodios), *E. coli* fue la especie más prevalente, 39% (70/178), seguida de *K. pneumoniae*, 31% (56/178), lo que no difiere de lo reportado en la literatura (52).

Si tenemos en cuenta el tipo epidemiológico de las bacteriemias (se determinó en 97/ 98 registros médicos revisados). *E. coli* es la enterobacteria más frecuente en las comunitarias (75,9%) mientras que *K. pneumoniae* lo es en las nosocomiales (66,7%) y en las asociadas a los cuidados de la salud (75%).

El sistema automatizado Vitek 2 system[®] detectó presencia de BLEE en 47 aislamientos, pero en 6 de ellos no pudo realizarse la confirmación:

- Uno correspondió a un aislamiento de *E. coli* (cepa 316), que no pudo recuperarse para su confirmación por lo que se excluyó del análisis, si bien su perfil de susceptibilidad (CIM cefotaxime, ceftazidime y cefepime ≥ 64 ug/ml) resultaba compatible con la producción de BLEE.
- En 4 aislamientos (3 *E. coli* y 1 *K. pneumoniae*) las CIMs reportadas para cefotaxime, ceftazidime y cefepime fueron ≤ 1 ug/ml, el test de sinergia de doble disco resultó negativo, al igual que la investigación de los genes *bla* para las BLEE más prevalentes. En el Protocolo Red Whonet - Año 2020 – Sistemas Automatizados (116) (Disponible: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2020/12/Protocolo-Red-Whonet-Sistemas-automatizados-2020-final.pdf> cuando analiza el comportamiento de los equipos Vitek 2 system[®] y Phoenix[™]BD, sugiere confirmar BLEE mediante sinergia de doble disco, en aquellas cepas con CIM a cefotaxime, ceftriaxona, ceftazidime y cefepime ≤ 1 ug/ml, dado que podría tratarse de un **falso positivo**. Como explicaciones para estos **falsos positivos** plantea: hiperproducción de SHV-1 (117), hiperproducción de AmpC, contaminación con bacterias Gram positivas, o problemas del lector óptico. La hiperproducción de penicilinas parecería la mejor explicación para estos 4 aislamientos: en 2 *E. coli* (367 y 499) se detectó la presencia de *bla*_{TEM-1} y en *E. coli* 310 *bla*_{SHV-1} por tanto estas β -lactamasas clásicas plasmídicas podrían explicar el falso positivo del Vitek. Estos fenómenos de falsos positivos en los tests fenotípicos han sido reportados previamente (117), e incluso aparecen mencionados en el instructivo de EUCAST para detección de mecanismos de resistencia (27), manejándose como posibles

explicaciones la presencia de otro tipo de enzimas en los aislamientos, tanto hiperproducción de enzimas cromosómicas inhibibles por ácido clavulánico (como SHV-1 en *K. pneumoniae*, K1 en *K. oxytoca*, o las cefalosporinas clase A de *P. vulgaris* o *P. penneri*). Otra explicación según este documento sería la presencia de β -lactamasas plasmídicas como SHV-1, TEM-1 u OXA-1 *like*, asociadas a trastornos de permeabilidad.

- El restante aislamiento, *M. morganii* (405), con CIM cefotaxime y ceftazidime =4 ug/ml y cefepime 8 ug/ml y test de sinergia de doble disco negativo, podría corresponder al caso de un falso positivo por hiperproducción de AmpC cromosómica más impermeabilidad (116)
- EUCAST en su manual de detección de mecanismos de resistencia (27), señala la importancia en la detección de la presencia de BLEEs, no porque su detección sea requerida para la categorización clínica de la susceptibilidad antimicrobiana, si no teniendo como objetivo el control de infecciones y la salud pública. De allí la importancia desde el laboratorio de poder detectar y categorizar adecuadamente las enterobacterias productoras de BLEE, evitando tanto los resultados falsamente negativos, como los falsamente positivos; dado que estos últimos podrían por ejemplo llevar a la indicación de ciertas precauciones de contacto que se indican a pacientes colonizados/infectados con microorganismos MDR, que se traducen en un considerable costo sanitario (118).
- En 41/177 enterobacterias (23%) sí se confirmó la presencia de BLEE. Analizado según especie, *K. pneumoniae* resultó la enterobacteria BLEE más frecuente (29/41 = 70,7%); lo que también es concordante por lo reportado en la literatura, donde *K. pneumoniae* es el bacilo Gram negativo multidrogo resistente más aislado en bacteriemias (58).

En cuanto a la prevalencia de BLEE según especie, en nuestro trabajo se situó en el **52%** para *K. pneumoniae* (29/56) y **10%** en *E. coli* (7/69). Esta mayor prevalencia en *K. pneumoniae* podría en parte relacionarse con que *K. pneumoniae* es la enterobacteria predominante en bacteriemias nosocomiales, mientras *E. coli* lo es en las comunitarias.

La mayor prevalencia de BLEE en *K. pneumoniae* respecto a *E. coli* ya está ampliamente reportada. En Europa, según EARS-net (119) <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/networks/disease-and-laboratory-networks/eu-ibd> la media de resistencia a cefalosporinas de tercera generación (80% de los casos debidos a BLEE) en aislamientos invasivos fue del 31.1% en *K. pneumoniae* y 14.6% en *E. coli* para el 2015. Y más regionalmente, la red Whonet Argentina (120) reporta para el 2018 56,7% de resistencia a cefalosporinas de tercera generación en *K. pneumoniae* recuperadas de bacteriemias y del 17,3% en *E.coli*, similar a lo observado en nuestros datos.

Teniendo en cuenta el tipo epidemiológico de bacteriemia, la prevalencia de BLEE en bacteriemias comunitarias de nuestro trabajo fue del 17% (5/29), mientras que en las nosocomiales resultó del 48% (29/60).

Se observó un notable predominio de enzimas del grupo CTX-M, lo que era lo esperable en función de la amplia documentación en la literatura tanto internacional (7), (12), (13) como nacional (34), (43), (44) , que lo reportan como el grupo más prevalente en la actualidad.

Solo se detectó una BLEE no pertenecientes a este grupo; SHV-5 en un aislamiento de *S. marcescens*.

Se verificó el cambio en la prevalencia dentro del grupo CTX-M; solo en 3/41(7%) aislamientos se detectó *bla*_{CTX-M-2}, con un franco predominio de *bla*_{CTX-M-15} (32/41=78%), como ha sido reportado por numerosos autores (7), (40), (41), (42) (43), (44), (121).

Como se explicó en apartados anteriores la enzima CTX-M-15 tiene la característica de poder aumentar significativamente la CIM a ceftazidime (unas 8 veces), a pesar de pertenecer a esta familia de “cefotaximasas” (19). Esto en parte podría explicar los altos niveles de resistencia a ceftazidime (88%) en un contexto de predominio de “cefotaximasas”.

El aumento en la detección de CTX-M-15 podría explicarse por su asociación con otros genes de resistencia, como *aac(6′)-Ib-cr* o *qnrB*, lo que podría favorecer su co-selección.

Por otro lado, la alta asociación entre OXA-1 y CTX-M-15 que se reporta habitualmente (122) contribuye a la alta resistencia a piperacilina tazobactam lo cual hace que en este contexto, esta droga no sea una buena opción para los pacientes con bacteriemias por BLEE.

Los resultados obtenidos nos permiten comprobar lo planteado en nuestra hipótesis 1 de trabajo: dentro de las bacteriemias producidas por enterobacterias BLEE+ los principales agentes etiológicos son *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de CTX-M-15.

Perfiles de susceptibilidad y determinantes de resistencia.

La multidrogo resistencia se define como la no-susceptibilidad a por lo menos un agente en tres o más familias antibióticas (18). De acuerdo a esta definición, 36/41 (87,8%) enterobacterias BLEE(+) mostraron un perfil multidrogo-resistente. El fenotipo de multidrogo-resistencia más prevalente fue el de no- susceptibilidad simultánea a: β-lactámicos / ciprofloxacina / aminoglucósidos y trimetoprim-sulfametoxazol (25 aislamientos). Como fue mencionado anteriormente, estos aislamientos MDR dificultan las decisiones terapéuticas, limitándolas drásticamente y obligando en muchos casos al empleo de carbapenems, con el riesgo de favorecer la aparición y deseminación de aislamientos productores de carbapenemasas.

29 aislamientos (70,7%) fueron resistentes a tigeciclina, pero ¿qué tan confiable es este nivel de “resistencia”? El estudio de tigeciclina no está exento de dificultades: por un lado el método de referencia (microdilución en caldo) (123) no es fácil de implementar en los laboratorios clínicos, y los métodos automatizados, como Vitek 2 system[®] utilizado en este trabajo, tienden a sobreestimar la resistencia (116). A esto se suma el hecho que CLSI no cuenta hasta ahora con puntos de quiebre a tigeciclina (29) mientras que EUCAST 2020 (32) tiene puntos de quiebre validados para *E. coli* y *C. koseri* (sensible ≤0,5 ug/ml), que fue el que se utilizó en el presente trabajo. En cambio el punto de quiebre de la FDA es bastante más alto, (sensible ≤2 ug/ ml) (124).

Por lo tanto, de haberse determinado la CIM a tigeciclina por el método de referencia y/o utilizado los puntos de quiebre de FDA, los niveles de resistencia encontrados hubieran sido menores. Si bien se reporta que la resistencia frente a este antibiótico ha ido aumentando gradualmente, tigeciclina se mantendría relativamente activa frente a las enterobacterias, con tasas de resistencia globales <10% en la mayoría de los estudios de vigilancia (123), aunque se reporta que los aislamientos productores de BLEEs o carbapenemasas exhiben tasas de resistencias más elevadas (123).

De todas formas, tigeciclina no es un antibiótico recomendable para el tratamiento de bacteriemias, dado que es bacteriostático, si bien la emergencia de bacilos Gram negativos MDR y pan resistentes ha obligado a ampliar su utilización e incluso considerarla como parte de tratamientos combinados para el tratamiento infecciones de enterobacterias productoras de carbapenemasas (125), (126).

Se encontró elevada **resistencia a quinolonas**, (32 aislamientos, 78%) e incluso en 3 aislamientos categorizados como susceptibles (CIM ciprofloxacina $\leq 0,25$ ug/ml) se detectaron mecanismos de resistencia transferibles a quinolonas: TMQR (ver más adelante). Se corroboró una alta prevalencia de TMQR (80,5%:33/41) entre enterobacterias BLEE (+), la cual ya había sido previamente reportada en el Hospital Universitario en el trabajo de Bado et al (34), en el cual detectaron estos mecanismos en 42/54 (77,8%) aislamientos BLEE, durante el período agosto 2010-julio 2011.

En ambos períodos (2010-2011 vs 2014-2015) el gen de TMQR más prevalente resultó *aac(6′)-Ib-cr* solo (2010-11: 27 aislamientos vs 2014-15: 22 aislamientos), o sumado a *qnrB* (2010-11: 14 aislamientos, 2014-2015: 9 aislamientos).

En los 9 aislamientos en los que se detectó simultáneamente *aac(6′)-Ib-cr* y *qnrB* el gen *bla* detectado correspondió a *bla_{CTX-M-15}*. Esta asociación entre *bla_{CTX-M-15}* y *aac(6′)-Ib-cr* en un mismo plásmido ha sido ampliamente documentada (127). En Uruguay, el primer reporte de la asociación *bla_{CTX-M-15}* y *aac(6′)-Ib-cr* es de 2006 (colonización rectal en UCI) de Cordeiro et al (47). En el Hospital de Clínicas, Bado et al (34). reportaron la combinación *bla_{CTX-M-15}* con *aac(6′)-Ib-cr* como el mecanismo de resistencia más prevalente en aislamientos BLEE de *E.coli* y *K. pneumoniae* recuperados de pacientes internados en cuidados intensivos.

Se ha postulado que la presencia de TMQR parece facilitar la adquisición de mutaciones que llevan a un aumento en el nivel de resistencia a quinolonas, es decir que los TMQR representarían un factor de riesgo para el desarrollo de resistencia de alto nivel a quinolonas (12). Esto constituiría una preocupación si en pacientes con aislamientos “sensibles” a ciprofloxacina esta se utilizara como tratamiento definitivo de la bacteriemia. Dado que el punto de quiebre clínico sensible $\leq 0,25$ ug/ml dista bastante de la CIM habitual de los aislamientos “wild type”, que correspondería en *E. coli* a una CIM de ciprofloxacina de 0,004 – 0,032 ug/ml (12) se ha propuesto utilizar el punto de quiebre de *Salmonella sp* (sensible $\leq 0,06$ ug/ml) para categorizar los aislamientos de enterobacterias invasivos (128).

Esta estrategia exige a los laboratorios que estudian la susceptibilidad por equipos automatizados como Phoenix TMBD, utilizar un método alternativo (como gradiente antibiótico)

dado que los paneles no cuentan con los rangos adecuados (la menor CIM informada por Phoenix™BD a ciprofloxacina es $\leq 0,125$ ug/ml. Por otro lado otros automatizados como el caso de Vitek 2 system®, han cambiado el rango de sus tarjetas para incluir diluciones más bajas (Vitek llegaba previamente hasta $\leq 0,25$ y desde 2021 se comercializan en Uruguay tarjetas que logran llegar hasta $\leq 0,06$ ug/ml).

Los antibióticos para los que se encontraron **mayores niveles de susceptibilidad (>80%)** fueron: carbapenems (meropenem 100%, imipenem 98%, ertapenem 98%), ceftazidime-avibactam (100%), fosfomicina (100%), colistin (93%) y amikacina (85%).

La elevada sensibilidad a **ceftazidime-avibactam** era esperable, dado que avibactam es inhibidor de β -lactamasas de clase A como las CTX-M y ya han sido reportados altos niveles de susceptibilidad en aislamientos productores de este tipo de enzima (129), (130).

Ahora bien, parecería cauto evitar el uso de ceftazidime-avibactam para el tratamiento definitivo de bacteriemias por enterobacterias BLEE, frente a las cuáles existen todavía otras opciones terapéuticas disponibles, reservando este nuevo antibiótico para el tratamiento de enterobacterias resistentes a carbapenems o de bacilos Gram negativos no fermentadores MDR, donde las opciones terapéuticas disponibles sean menores.

En cuanto al tratamiento empírico de las infecciones del torrente sanguíneo, ceftazidime-avibactam podría ser una opción, en presencia de factores que hagan sospechar la posibilidad de un bacilo Gram negativo resistente a carbapenems, especialmente cuando la epidemiología del centro de salud indique una baja prevalencia de metalcarbapenemasas.

Respecto a otras combinaciones de **β -lactámico con inhibidor de β -lactamasas**, ningún aislamiento resultó susceptible a ampicilina-sulbactam, mientras que 11 aislamientos (26,8%) resultaron susceptibles a piperacilina-tazobactam. De los 11 aislamientos susceptibles, 5 exhibieron CIM ≤ 4 ug/ml, 3 aislamientos CIM=8 ug/ml y 3 aislamientos=16 ug/ml. Piperacilina-tazobactam podría ser una opción como tratamiento definitivo en los aislamientos “susceptibles” pero la recomendación sería solo para aquellos susceptibles y con una CIM ≤ 8 ug/ml (por tanto solo en 8/11 aislamientos); dado que se ha reportado que con CIM = 16 ug/ml la tasa de éxito para lograr el parámetro objetivo Tiempo > CIM 50% cae al 57% (37).

Esto resalta lo importancia de determinar la CIM (especialmente en infecciones invasivas) y reportarla desde el laboratorio, así como de contar con profesionales médicos capaces de interpretarla en el contexto clínico del paciente.

Los altos niveles de susceptibilidad a **fosfomicina** también eran esperables (131), si bien la mayoría de los estudios que evalúan la actividad in vitro de fosfomicina en enterobacterias BLEE+ (fundamentalmente *E. coli* y *K. pneumoniae*), se basan en aislamientos urinarios. fosfomicina no es una opción aceptable para el tratamiento empírico/definitivo de infecciones del torrente sanguíneo, salvo casos excepcionales en que podría utilizarse en combinación con otros antibióticos, para el tratamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasas (125), (126).

De todas formas, parece interesante contar con datos en cuanto a niveles de susceptibilidad de fosfomicina en aislamientos clínicos invasivos nacionales de *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE, dado que es un antimicrobiano que se ha incorporado bastante recientemente en nuestro país, y no todos los laboratorios ensayan o reportan su susceptibilidad, especialmente en enterobacterias distintas a *E. coli*, para las cuales el método de estudio recomendado es el agar dilución, el cual resulta bastante complejo de realizar rutinariamente en laboratorios clínicos. En nuestro trabajo determinamos la CIM a fosfomicina mediante agar dilución en enterobacterias distintas a *E. coli*, por lo que creemos que esta información constituye un aporte de calidad a la generación de conocimiento local respecto a este antibiótico.

Respecto a **colistin**, es importante subrayar que la susceptibilidad al mismo fue determinada por un método **actualmente no aceptable** para su estudio (Vitek 2 system®), como ya fue publicado por el laboratorio regional de Referencia Malbrán, en su boletín informativo Nro 5 del 2017, disponible en <http://antimicrobianos.com.ar/2017/09/desafios-en-los-metodos-de-evaluacion-de-la-sensibilidad-a-polimixinas-colistinapolimixina-b/> (132). Esto se debe a la alta tasa de errores muy mayores (falsa sensibilidad), por lo que bien podríamos estar sobre estimando la susceptibilidad frente a dicho antibiótico.

Amikacina es de los dos aminoglucósidos testados el que mostró mayor porcentaje de susceptibilidad (amikacina 85% vs gentamicina 37%), en forma similar a lo previamente reportado por otros autores para aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE, (133) así como de *K. pneumoniae* productoras de KPC (134).

Interesantemente, 27/32 aislamientos positivos para *aac (6')-Ib* resultaron sensibles a amikacina (CIM ≤ 16 ug/ml), e incluso 17/27 mostraron una CIM ≤ 2 ug/ml. Ya está descrita esta falta de correlación entre la CIM de amikacina y la presencia de *aac (6')-Ib* (133), (134), (135)

Se han manejado como posibles explicaciones, la baja expresión del gen o porque la amikacina no es un buen sustrato para la enzima o incluso que los puntos de quiebre clínicos no son adecuados (debiendo recordar que no son iguales entre CLSI (29) y EUCAST (32), teniendo estas últimas guías puntos de quiebre más bajos respecto a las normas americanas). Así, el impacto clínico de la presencia de *aac (6')-Ib* sobre amikacina ha permanecido incierto, dado que las MICs pueden situarse tanto por encima como por debajo de los puntos de quiebre de susceptibilidad (134).

En el trabajo de Bremmer DN et al (134), en el que se investigó la actividad de amikacina en 20 aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC y portadores de *aac (6')-Ib* se observó que 19/20 aislamientos mostraban CIMs de amikacina de 16 o 32 ug/ml. Estos valores de CIM dificultan obtener concentraciones plasmáticas adecuadas del aminoglucósido cuando éste se administra en la dosificación habitual 15 mg/kg peso/día. Con una dosificación mayor de 25mg/kg/día pueden lograrse concentraciones adecuadas con CIM de 16 ug/ml pero no de 32 ug/ml. Por lo tanto la presencia de *aac (6')-Ib* puede conllevar dificultades terapéuticas aún cuando el aminoglucósido se mantenga dentro de la categoría “susceptible” de CLSI (29).

En nuestro trabajo las CIMs encontradas para amikacina son más bajas que las reportadas en el trabajo de Bremmer DN et al (134) por lo que en estos aislamientos el significado clínico de la

enzima modificante de aminoglucósidos podría ser más discutible. Pero un detalle no menor es que mientras que en el trabajo de Bremmer DN et al (134) la CIM fue determinada por microdilución en caldo (método de referencia), en el presente trabajo se determinó por equipo automatizado. Esto lleva a preguntarnos si el equipo automatizado podría estar subestimando el valor de la CIM de amikacina, y así resultaría interesante en un futuro corroborar las CIM a amikacina por el método de referencia.

Si bien el tratamiento empírico/definitivo, durante la internación de los pacientes con bacteriemias por enterobacterias BLEE(+) podría manejarse con el empleo de carbapenems o amikacina, los elevados niveles de resistencia encontrados frente a trimetoprim-sulfametoxazol(80,5%) y ciprofloxacina (78%) dificultan el cambio a la vía oral cuando se plantea el alta de estos pacientes.

Relación clonal entre principales enterobacterias BLEE(+).

Pudo observarse multiclonalidad entre los aislamientos *E. coli* BLEE (+) recuperados. Se detectaron secuenciotipos considerados “exitosos”: **ST 73** (aislamiento 616), **ST 95**(aislamiento 637) y **ST 38** (aislamientos 273 y 397) (74). Sin embargo, resultó llamativa la ausencia del ST131, el cual ha sido uno de los secuenciotipos vinculado con la diseminación mundial de CTX-M-15 (40), (74), (136).

En cuanto a *K. pneumoniae* se detectó una alta prevalencia del **ST 258** dentro de los aislamientos BLEE(+) (12/29=41,4%) , aunque no se encontraron otros integrantes del complejo clonal 258 (CC258), como ST 11, ST 340, o ST 512 (74).

El **ST 258** también se encontró presente (1 aislamiento: 542) dentro del grupo de *K. pneumoniae* BLEE (-). Si bien el ST 258 es mejor conocido por su asociación con *bla*_{KPC} (74) , en este trabajo lo reportamos en aislamientos KPC negativos, sobre todo BLEE (+), productores de CTX-M-15, aunque también en BLEE (-).

Esta alta prevalencia del ST 258 resulta preocupante, dado que este secuenciotipo es considerado como un prototipo de clon internacional de alto riesgo, responsable del rápido aumento en la resistencia antibiótica en *K. pneumoniae* (74).

El ST 258 se ha asociado a infecciones urinarias, respiratorias y del torrente sanguíneo, sobre todo en pacientes hospitalizados (74).

En nuestra casuística, 9 de los aislamientos ST 258 BLEE(+) correspondieron a bacteriemias nosocomiales, 2 a infecciones asociadas a los cuidados a la salud y solamente 1 aislamiento correspondió a una bacteriemia clasificada como comunitaria. El aislamiento *K. pneumoniae* ST 258 BLEE(-) también correspondió a una bacteriemia de tipo nosocomial.

Al analizar los aislamientos *K. pneumoniae* ST 258 BLEE(+) mediante PFGE observamos que no constituían una entidad única, si no que identificamos 5 pulsotipos diferentes, resultando divergente al emplear PFGE para su análisis. PFGE es una técnica con alto nivel de discriminación, mayor que el del MLST. Esto hace que clones identificados por MLST puedan tener diferentes pulsotipos. Así, ambas técnicas son complementarias, ya que PFGE no es una buena herramienta para reconocer secuenciotipos, pero si para identificar brotes de infecciones, mientras que MLST

resulta una herramienta ideal para el seguimiento de secuenciotipos o clones exitosos alrededor del mundo pero no para detectar brotes.

Además del ST 258 se encontraron otros ST considerados de alto riesgo según la literatura, **ST 101** (4 aislamientos: 201, 259, 313, 583) (79), (80), **ST 14** (1 aislamiento: 445) (74) y **ST 15** (1 aislamiento: 446) (78), (137), (138).

ST 101 ha sido asociado a numerosos brotes nosocomiales y pertenece al complejo clonal 11 (CC11), el cual ha sido reportado asociado a diferentes alelos de β -lactamasas , incluyendo *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{OXA-48}, y *bla*_{KPC}. Se trata de un complejo clonal globalmente diseminado, y asociado a infecciones relacionadas con los cuidados de la salud, tanto en Europa, Asia y América (78), (79), (80).

La preocupación por la detección de estos clones exitosos se debe a que representan una fuente poderosa para la diseminación de elementos genéticos de resistencia; típicamente tienen gran capacidad para reproducirse y sobrevivir por largos períodos de tiempo, facilitando su rol en la diseminación horizontal de resistencia a otras bacterias y pudiendo actuar tanto como donantes como receptores (74). La diseminación de clones MDR de alto riesgo se facilita por la presión selectiva de los antibióticos, muy utilizados en el ámbito hospitalario (74).

¿Cómo ha continuado evolucionando la microbiología de las bacteriemias por enterobacterias en el Hospital Universitario?

Siguiendo la evolución temporal de las bacteriemias por enterobacterias en el Hospital de Clínicas, observamos tanto diferencias como similitudes respecto a los datos presentados en el trabajo de Munilla S et al durante la semana académica del Hospital de Clínicas 2020 “Bacteriemias por *Klebsiella pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido: que es lo que sabemos de este patógeno versátil” (139), donde se estudiaron los episodios de bacteriemia por enterobacterias en el período mayo 2018 – junio 2019.

En nuestro período de estudio (2014-2015) *E. coli* resultó la enterobacteria más prevalente 70/178(39%), seguida por *K. pneumoniae* (56/178 =31,5%), mientras que en el período 2018-2019 de las 176 enterobacterias recuperadas, *K. pneumoniae* fue la más frecuente (73/176= 41%). En ambos períodos la proporción de BLEE en aislamientos de *K. pneumoniae* fue similar 29/56 (51,8%) en 2014-2015 versus 27/73(37%). Y lo mismo sucedió con la proporción de CTX-M-15 entre aislamientos de *K. pneumoniae* BLEE:25/29 (86,2%) 2014-2015 versus 23/27(85,2%) 2018-2019. En cuanto a la prevalencia de ST 258 entre *K. pneumoniae* BLEE(+) se observó una mayor proporción del ST258 entre los aislamientos *K. pneumoniae* BLEE(+) del primer período (12/29=41,4%) respecto al segundo período (5/27=18,5%).

Aspectos clínicos en las bacteriemias por enterobacterias.

Factores de riesgo para bacteriemia por enterobacteria BLEE (+).

En el análisis univariado se encontraron como posibles factores de riesgo para bacteriemia por enterobacterias BLEE(+): presencia de enfermedad renal crónica (OR 5,17, IC95%1,88-14,21), cirugía en los 6 meses previos (OR 3,439 IC95% 1,226-9,645), infección o colonización por enterobacteria BLEE (+) en los 6 meses previos (OR 3,938 1,110-13,965), presencia de dispositivo médico a permanencia previo (OR 14,455 IC95% 3,863-54,081), antibioticoterapia previa al hemocultivo durante actual internación (OR 2,341 IC95% 1,003-5,461), tratamiento con oximinocefalosporinas previo al hemocultivo (OR 5,9 IC 95% 1,169 – 30,625) bacteriemia nosocomial o asociada a los cuidados de la salud, es decir no-comunitaria (OR 5,091 IC95% 1,738-14,909). En el análisis multivariado solamente las variables presencia **de dispositivo médico a permanencia previo (OR=55,2 IC95% 5,5-553) y bacteriemia no comunitaria (OR 17,4 IC95% 2,1-143) resultaron factores de riesgo para bacteriemia por enterobacteria BLEE.**

Sin embargo otros factores previamente reportados en la literatura, como enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes, o cáncer (98) no pudieron demostrarse como factores de riesgo.

El consumo de antibióticos en los 6 meses previos constituye un factor de riesgo bien descrito (103), (104), lo mismo la variable “usuario frecuente del servicio de emergencias”(105), pero desafortunadamente ninguno pudo investigarse, dado que el estudio fue retrospectivo y dicha información no estaba presente ni en los registros médicos en papel, ni el sistema informático del hospital.

Con respecto a la segunda hipótesis de trabajo, que planteaba el antecedente previo de infección / colonización por enterobacterias BLEE+, la presencia de dispositivos médicos a permanencia y la bacteriemia nosocomial/asociada a los cuidados de la salud como factores de riesgo para bacteriemia por enterobacterias BLEE, no se logró la asociación entre el antecedente de BLEE previa y la presencia de bacteriemia por enterobacteria BLEE. Como posibles explicaciones, podrían ser varios los factores que expliquen por qué no pudieron detectarse más factores de riesgo, algunos bien reconocidos en la literatura, como lo es el antecedente de BLEE previa. Fundamentalmente podría tratarse de aspectos metodológicos, como el n reducido (falta de potencia) y los sesgos inherentes a la recolección retrospectiva de datos. Aunque por otro lado también hay un aspecto epidemiológico interesante de las enzimas CTX-M y es que también se reporta que pueden encontrarse en aislamientos de enterobacterias colonizantes de individuos sin condiciones médicas previas, exposición a antibióticos o contacto previo con los sistemas de salud (13), (33).

Factores de riesgo para mortalidad intrahospitalaria.

En el análisis univariado se encontraron como factores de riesgo: enfermedad hematooncológica o neoplásica (OR 3,148 IC95% 1,033-9,595), necesidad de cuidados intensivos durante la internación (OR 5,538 IC95% 1,801-17,036), score qPitt ≥ 2 (OR 6,852 IC95% 2,178-21,557), y foco respiratorio de la bacteriemia (OR 5,846 IC95% 1,297-26,347).

Tras el análisis multivariado, en cambio, solo pudo concluirse que los pacientes que fallecieron durante la internación tenían 4,7 veces más chance de padecer de enfermedad hematooncológica o neoplásica (OR 4,687 IC95% 1,207-18,200) y 10 veces de presentar un score qPitt ≥ 2 (OR 10,332 IC95% 2,639-40,442), respecto a los pacientes que sobrevivieron.

El score *qPitt* (88) resultó una herramienta sencilla y eficiente de utilizar para valorar la severidad de la presentación de la bacteriemia y reconocer pacientes con mayor riesgo de mortalidad (*qPitt* ≥ 2).

En cambio, no se pudo demostrar asociación estadísticamente significativa entre actividad del tratamiento antibiótico empírico inicial y evolución de los pacientes en términos de mortalidad hospitalaria ($p = 0,536$), pese a que otros autores (82), han demostrado que el tratamiento empírico inicial inadecuado constituye un factor de riesgo para mortalidad, y que incluso duplica la mortalidad a 30 días (86).

Nuevamente, el bajo número de pacientes analizados puede ser uno de los factores que nos puede haber impedido encontrar este tipo de asociación. Por otro lado, para que el análisis respecto a la antibioticoterapia resultara más completa y exacta se debería también haber considerado la dosis diaria administrada, y, determinar si la misma resultaba adecuada para el paciente (peso, función renal, etc) y la infección en cuestión. Por ejemplo, un antibiótico puede ser “activo” según el antibiograma pero si la posología administrada no resulta adecuada (por ejemplo se sub dosifica) puede no ser activo “in vivo”.

Así mismo la recolección retrospectiva de datos y la calidad de los registros impidieron la utilización de scores, como el índice de Charlson (96) para poder cuantificar el peso de la severidad de las enfermedad subyacentes (comorbilidades) sobre la mortalidad de los pacientes.

Otro aspecto que tampoco se analizó en el trabajo, fue el referente a los factores de virulencia de las enterobacterias involucradas, es decir que por parte del hospedero se investigaron numerosos factores pero por parte del microorganismo solo se consideró lo relativo al perfil de resistencia.

Impacto de la presencia de BLEE en la actividad del tratamiento antibiótico inicial empírico y en la duración de la hospitalización a partir del episodio de bacteriemia.

Con respecto a la tercer hipótesis de trabajo que planteaba la presencia de bacteriemia por enterobacteria BLEE+ como factor de riesgo para tratamiento empírico inicial inactivo, según nuestros datos 69 pacientes recibieron antibioticoterapia empírica, y en 46 de ellos (66,7%) la misma resultó activa in vitro. Estratificando según presencia de BLEE, en 36/40 pacientes con bacteriemia BLEE (-) el tratamiento resultó activo (90%) mientras que en BLEE(+) solo en 10/29 (34,5%), y esta diferencia fue estadísticamente significativa en un nivel del 5% ($p < 0,0001$). Así, se corroboró que la presencia de bacteriemia por enterobacteria BLEE (+) es un factor de riesgo para tratamiento empírico inadecuado: los pacientes con bacteriemia por enterobacteria BLEE(+) tendrían 17 veces más chance de recibir un tratamiento inicial inadecuado en comparación con aquellos cuya infección es por un aislamiento BLEE (-) (OR 17,1 IC 95% 4,727 – 61,86). Otros autores ya han reportado esta diferencia; como Girometti et al (86) que en su serie de bacteriemias por *K. pneumoniae*, encontraron que el tratamiento empírico fue adecuado en 74% de las infecciones causadas por cepas negativas tanto para BLEE y KPC, pero solo resultó activo en el 33% de las debidas a *K. pneumoniae* BLEE(+). El trabajo de Girometti et al (86) demostró que el recibir antibioticoterapia inadecuada se asocia con una mayor tasa de mortalidad a 30 días, (duplicación de la misma, HR 1.9 con IC 95% 1.1-3.4, $p=0.02$). En el

presente trabajo no se consideró la variable “mortalidad a 30 días”, si no “mortalidad intrahospitalaria”, pero no se logró demostrar asociación entre antibioticoterapia empírica inadecuada y mortalidad intrahospitalaria.

Por otro lado, pudo demostrarse que la mediana de la duración de la hospitalización a partir del episodio bacteriemia fue más prolongada en casos BLEE+ que en los controles BLEE- (22,5 vs14 días, $p=0,006$). Esto es concordante con lo publicado por otros autores, donde las infecciones por enterobacterias BLEE se asociaron a peores resultados clínicos, mayor duración de la hospitalización y mayores costos hospitalarios (118), (140).

Maslikowska et al (140) , llevaron a cabo un diseño de casos-controles retrospectivos en Canadá (2010-2013), donde consideraron como casos pacientes hospitalizados con infecciones por *E. coli* o *Klebsiella spp* productoras de BLEE (n=75) y como controles pacientes hospitalizados con infecciones por los mismos microorganismos pero negativos para la producción de BLEE (n=73). Incluyeron diferentes tipos de infecciones (bacteriemias, infecciones abdominales, respiratorias, piel y tejidos blandos e infecciones urinarias). Estos investigadores encontraron que tanto la mediana total de la duración de la hospitalización (18 vs 9 días, $p=0,01$), la duración hospitalización previa a la infección (1 vs 0 días, $p=0,01$) y la duración de la hospitalización relacionada con la infección (8 vs 6 días, $p=0,02$) eran más prolongadas en los casos (BLEE positivos) que en los controles (BLEE negativos).

En el presente trabajo se observó una frecuente indicación de meropenem en pacientes con bacteriemia por enterobacteria BLEE (-). De hecho, el 60% de los carbapenemes utilizados fue en bacteriemias BLEE (-), incluso cuando se revisa la antibioticoterapia ajustada al resultado de laboratorio se mantiene el carbapenem pese a otras opciones de menor espectro, como piperacilina-tazobactam.

Fortalezas y limitaciones del presente estudio.

Fortalezas:

-El estudio de los episodios de bacteriemia abarcó tanto aspectos clínico-epidemiológicos como microbiológicos, ofreciendo así una visión más integral sobre los mismos.

-Se logró cumplir con los objetivos propuestos, lográndose identificar y caracterizar las enterobacterias más frecuentemente responsables de infecciones de torrente sanguíneo, así como los perfiles de susceptibilidad y co-resistencia en aquellos aislamientos productores de BLEE, colaborando así con el conocimiento de la realidad epidemiológica de nuestro Hospital Universitario. Así mismo, también se lograron identificar factores de riesgo para bacteriemias por patógenos BLEE(+).

Limitaciones:

Los datos fueron recopilados retrospectivamente, lo que limitó la calidad de la información obtenida (que en algunos aspectos resultó incompleta). Es bien conocido que uno de los principales inconvenientes de los estudios retrospectivos es su mayor susceptibilidad de sesgo.

Por tratarse de un estudio realizado en un único centro hospitalario, el conocimiento generado se limita a la epidemiología local específica.

Falta de potencia: existe la posibilidad de que el número de registros médicos revisados podría haber sido insuficiente para lograr identificar en el presente estudio algunos factores de riesgo para BLEE o mortalidad, bien descritos en la bibliografía.

No se consideraron factores de virulencia de las enterobacterias para el análisis de factores de riesgo mortalidad.

La CIM a colistin se determinó por una metodología que actualmente no es aceptable (equipo automatizado).

CONCLUSIONES.

- Pudimos observar que cuando la bacteriemia es debida a un microorganismo BLEE(+) se asocia con **mayor frecuencia de tratamiento antibiótico empírico inicial inactivo.**
- Un elevado porcentaje (65,5%) de pacientes con **bacteriemia BLEE(+)** recibió tratamiento **empírico inadecuado**; mayoritariamente **piperacilina-tazobactam, ceftriaxona/cefotaxime y ampicilina-sulbactam.**
- Resulta importante que la selección del plan antibiótico empírico tenga en cuenta la presencia los **factores de riesgo para enterobacteria BLEE (+)**, y así indicarse alguno de los antibióticos con mayor actividad frente a este tipo de patógenos.
- En el análisis multivariado se identificaron como **factores de riesgo** para infección por BLEE (+): presencia de dispositivo médico a permanencia ($p=0,002$, $OR=50,226$, $IC95\%$ 4,367 – 577,721) y presencia de bacteriemia no comunitaria, ($p=0,026$, $OR=12,052$, $IC95\%$ 1,350-107,605).
- Dada la epidemiología local referente a las BLEE presentes en los aislamientos estudiados, el uso de piperacilina tazobactam debería de eliminarse del tratamiento empírico de las bacteriemias cuando se sospeche la presencia de BLEE.
- Los **antibióticos con mayor actividad in vitro para aislamientos BLEE(+)**, con sensibilidad $>80\%$, fueron los carbapenems, ceftazidime-avibactam, fosfomicina, colistin y amikacina.
- Por todo lo anterior, antes de indicar tratamiento empírico inicial en pacientes con bacteriemia debería investigarse la presencia de posibles factores de riesgo para BLEE, que de estar presentes contraindicarían el uso de ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam y cefalosporinas de tercera generación, debiendo optarse en su lugar por carbapenems.
- ***K. pneumoniae* resultó la enterobacteria BLEE más frecuente** y se encontró un alta prevalencia ($>40\%$) del **ST 258** , clon de alto riesgo de diseminación, lo que subraya la importancia de mantener estudios de vigilancia para conocer la dinámica de circulación de ese tipo de clones.

PERSPECTIVAS.

Sería fundamental mantener la vigilancia de la prevalencia de aislamientos BLEE y resistencia antibiótica, para lograr mantener las terapias empíricas actualizadas a la realidad epidemiológica. Idealmente el estudio de susceptibilidad a colistin debería realizarse por el método de referencia, o al menos por alguno aceptable, para contar con información confiable sobre la susceptibilidad a este antimicrobiano que cada vez se utiliza más para el tratamiento de microorganismos MDR y XDR.

Así mismo, continuar el estudio de los aislamientos invasivos de enterobacterias BLEE para comprender la evolución temporal de los principales clones de *E. coli* y *K. pneumoniae* circulantes en el Hospital Universitario.

En vista de esto, sería de interés la realización de un futuro estudio clínico-epidemiológico-microbiológico a propósito de las bacteriemias, pero esta vez prospectivo y que incluya además la investigación de más aspectos relacionados a los microorganismos, como el estudio de sus factores de virulencia y cómo éstos pueden influir en la evolución de los pacientes, lo que brindaría una visión más integral de estos procesos.

Poder incluir análisis de genomas completos de los microorganismos involucrados permitiría estudiar la circulación de plásmidos codificantes de BLEE en el Hospital.

BIBLIOGRAFÍA

1. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. febrero de 2022;399(10325):629-55.
2. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. marzo de 2018;18(3):318-27.
3. Jim O'Neill. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2016; Disponible en: <https://apo.org.au/node/63983>
4. The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2016-2020. :25.
5. Alonso L, Galiano G, Gonzalez A, Grill F, Nabón A, Seija V. MSP PLAN NACIONAL ACCION CONTRA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA ABORDAJE DESDE LA SALUD PÚBLICA. [Internet]. 2018. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/comunicacion/noticias/plan-nacional-de-accion-contra-la-resistencia-antimicrobiana>
6. Yao J, Mollering R. Antibacterial Agents. En: Versalovic J, editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 10.ª ed. Washington DC: ASM Press; 2011. p. 1043-81.
7. Bush K. Past and Present Perspectives on β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 30 de julio de 2018;62(10):e01076-18, /aac/62/10/e01076-18.atom.
8. Calbo E, Salavert M. Utilización de ceftazidima/avibactam en el hospital: ¿cuándo?, ¿dónde?, ¿cómo? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;6.
9. Zhanel GG, Lawrence CK, Adam H, Schweizer F, Zelenitsky S, Zhanel M, et al. Imipenem–Relebactam and Meropenem–Vaborbactam: Two Novel Carbapenem- β -Lactamase Inhibitor Combinations. *Drugs*. enero de 2018;78(1):65-98.
10. Chambers HF. Penicillins and β -lactam Inhibitors. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7.ª ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Elsevier; 2009.
11. Navarro F, Miró E, Mirelis B. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. noviembre de 2010;28(9):638-45.
12. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. agosto de 2011;29(7):524-34.
13. Cantón R, González-Alba JM, Galán JC. CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion. *Front Microbiol* [Internet]. 2012 [citado 23 de abril de 2021];3. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2012.00110/abstract>
14. Ambler R. The structure of β -lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* . 1980;289(1036).

15. Bush K. Characterization of β -Lactamases. *ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER.* 1989;33:5.
16. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A Functional Classification Scheme for β -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. 1995;39:23.
17. Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 de marzo de 2010;54(3):969.
18. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* marzo de 2012;18(3):268-81.
19. O. Gutkind G, Di Conza J, Power P, Radice M. β -lactamase-mediated Resistance: A Biochemical, Epidemiological and Genetic Overview. *Curr Pharm Des.* 1 de noviembre de 2012;19(2):164-208.
20. V GF, L A, I B, Nf C, Mi M, G L, et al. Allodemic distribution of plasmids co-harboring bla_{CTX-M-15/aac(6')}-Ib-cr/qnrB in *Klebsiella pneumoniae* is the main source of extended-spectrum β -lactamases in Uruguay's paediatric hospital. *J Glob Antimicrob Resist.* 15 de abril de 2017;9:68-73.
21. Vignoli R. Resistencia a antibióticos β -lactámicos en Bacilos Gram negativos. En: Vignoli R, Gales AC, editores. *Mecanismos de resistencia a antibióticos Manual de apoyo del curso "Interpretación del antibiograma en la Práctica Clínica Diaria"*. 2018. p. 32-55.
22. Naas T, Oueslati S, Bonnin RA, Dabos ML, Zavala A, Dortet L, et al. Beta-lactamase database (BLDB) – structure and function. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 1 de enero de 2017;32(1):917-9.
23. Papa-Ezdra R, Cordeiro NF, Di Pilato V, Chiarelli A, Pallecchi L, Garcia-Fulgueiras V, et al. Description of novel resistance islands harbouring bla_{CTX-M-2} in IncC type 2 plasmids. *J Glob Antimicrob Resist.* septiembre de 2021;26:37-41.
24. Ghiglione B, Rodríguez MM, Brunetti F, Papp-Wallace KM, Yoshizumi A, Ishii Y, et al. Structural and Biochemical Characterization of the Novel CTX-M-151 Extended-Spectrum β -Lactamase and Its Inhibition by Avibactam. *Antimicrob Agents Chemother.* 18 de marzo de 2021;65(4):e01757-20.
25. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. Kraft CS, editor. *J Clin Microbiol.* 29 de agosto de 2018;56(11):e01140-18, /jcm/56/11/e01140-18.atom.
26. Vera-Leiva A, Barría-Loaiza C, Carrasco-Anabalón S, Lima C, Aguayo-Reyes A, Domínguez M, et al. KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Rev Chil Infectol.* octubre de 2017;34(5):476-84.
27. Giske CG, Martínez-Martínez L, Cantón R, Stefani S, Skov R, Glupczynski Y, et al. *EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance* Version 2.0. 2017.

28. Bedenić B, Sardelić S. Carbapenemases [Internet]. Growing and Handling of Bacterial Cultures. IntechOpen; 2018 [citado 7 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/growing-and-handling-of-bacterial-cultures/carbapenemases>
29. Weinstein MP, Lewis JS, Bobenchik AM, Campeau S, Cullen SK, Galas MF, et al. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. 30th ed. Wayne, PA 19087 USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.
30. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Nineteenth Informational Supplement M100-S19. 19th ed. Wayne, PA 19087 USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
31. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S20. 20th ed. Wayne, PA 19087 USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
32. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2020. [Internet]. EUCAST.; 2020. Disponible en: <http://www.eucast.org>
33. Ruppé É, Woerther PL, Barbier F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Ann Intensive Care*. diciembre de 2015;5(1):21.
34. Bado I, Gutiérrez C, García-Fulgueiras V, Cordeiro NF, Araújo Pirez L, Seija V, et al. CTX-M-15 in combination with aac(6')-Ib -cr is the most prevalent mechanism of resistance both in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, including *K. pneumoniae* ST258, in an ICU in Uruguay. *J Glob Antimicrob Resist*. septiembre de 2016;6:5-9.
35. Karanika S, Karantanos T, Arvanitis M, Grigoras C, Mylonakis E. Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase–Producing *Enterobacteriaceae* and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clin Infect Dis*. 1 de agosto de 2016;63(3):310-8.
36. Stuart RL, Kotsanas D, Webb B, Vandergraaf S, Gillespie EE, Hogg GG, et al. Prevalence of antimicrobial-resistant organisms in residential aged care facilities. *Med J Aust*. noviembre de 2011;195(9):530-3.
37. Aslan AT, Akova M. Extended spectrum β -lactamase producing enterobacteriaceae: carbapenem sparing options. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2 de diciembre de 2019;17(12):969-81.
38. Bréchet C, Plantin J, Sauget M, Thouverez M, Talon D, Cholley P, et al. Wastewater Treatment Plants Release Large Amounts of Extended-Spectrum β -Lactamase–Producing *Escherichia coli* Into the Environment. *Clin Infect Dis*. 15 de junio de 2014;58(12):1658-65.
39. Hawkey PM. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a product of globalization. *J Hosp Infect*. abril de 2015;89(4):241-7.

40. Sennati S, Santella G, Di Conza J, Pallecchi L, Pino M, Ghiglione B, et al. Changing Epidemiology of Extended-Spectrum β -Lactamases in Argentina: Emergence of CTX-M-15. *Antimicrob Agents Chemother.* noviembre de 2012;56(11):6003-5.
41. Guzmán-Blanco M, Labarca JA, Villegas MV, Gotuzzo E. Extended spectrum β -lactamase producers among nosocomial Enterobacteriaceae in Latin America. *Braz J Infect Dis.* julio de 2014;18(4):421-33.
42. Bado I, García-Fulgueiras V, Cordeiro NF, Betancor L, Caiata L, Seija V, et al. First Human Isolate of Salmonella enterica Serotype Enteritidis Harboring *bla*_{CTX-M-14} in South America. *Antimicrob Agents Chemother.* abril de 2012;56(4):2132-4.
43. Vignoli R, García-Fulgueiras V, Cordeiro NF, Bado I, Seija V, Aguerrebere P, et al. Extended-spectrum β -lactamases, transferable quinolone resistance, and virulotyping in extra-intestinal E. coli in Uruguay. *J Infect Dev Ctries.* 31 de enero de 2016;10(01):43-52.
44. Robino L, Telechea H, Speranza N, Garcia-Fulgueiras V, Cordeiro N, Bado I, et al. Risk factors for the acquisition of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospitalized children. *J Infect Dev Ctries.* 17 de abril de 2013;7(04):361-4.
45. Cruz GR, Radice M, Sennati S, Pallecchi L, Rossolini GM, Gutkind G, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants among oxyiminocephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* noviembre de 2013;108(7):924-7.
46. Resultados de la Vigilancia epidemiológica de las infecciones hospitalarias en Uruguay. 1º/1/2007- 30/04/2010. [Internet]. Uruguay: Dirección General de la Salud División Epidemiología. MSP; [citado 5 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/comunicacion/publicaciones/resultados-vigilancia-epidemiologica-infecciones-hospitalarias-uruguay>
47. Cordeiro NF, Robino L, Medina J, Seija V, Bado I, García V, et al. Ciprofloxacin-Resistant Enterobacteria Harboring the *aac(6')-Ib-cr* Variant Isolated from Feces of Inpatients in an Intensive Care Unit in Uruguay. *Antimicrob Agents Chemother.* febrero de 2008;52(2):806-7.
48. Wirtz VJ, Dreser A, Gonzales R. Trends in antibiotic utilization in eight Latin American countries, 1997-2007. *Rev Panam Salud Publica Pan Am J Public Health.* marzo de 2010;27(3):219-25.
49. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad Bugs, No Drugs: No ESCAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* enero de 2009;48(1):1-12.
50. Coll P, Coque MT, Dominguez MA, Vázquez J, Vila J. Métodos moleculares de tipificación epidemiológica en bacteriología. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [Internet]. Cercenado E, Cantón R, editores. 2005. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia18.pdf>

51. Laupland KB, Church DL. Population-Based Epidemiology and Microbiology of Community-Onset Bloodstream Infections. *Clin Microbiol Rev.* octubre de 2014;27(4):647-64.
52. Seifert H. The Clinical Importance of Microbiological Findings in the Diagnosis and Management of Bloodstream Infections. *Clin Infect Dis.* 15 de mayo de 2009;48(s4):S238-45.
53. Blood cultures. En: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3.^a ed. Washinton DC: ASM press;
54. Dorman N. Sepsis. En: *Enfermedades Infecciosas*. Madrid: Marbán; 2004.
55. Sabatier C, Peredo R, Vallés J. Bacteriemia en el paciente crítico. *Med Intensiva.* octubre de 2009;33(7):336-45.
56. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, et al. Health Care–Associated Bloodstream Infections in Adults: A Reason To Change the Accepted Definition of Community-Acquired Infections. :8.
57. Cortegiani A, Russotto V, Graziano G, Saporito L, Raineri SM, Mammina C, et al. Bloodstream infections in intensive care unit patients: distribution and antibiotic resistance of bacteria. *Infect Drug Resist.* agosto de 2015;287.
58. Orsini. Microbiological Profile of Organisms Causing Bloodstream Infection in Critically Ill Patients. *J Clin Med Res [Internet]*. 2012 [citado 5 de abril de 2021]; Disponible en: <http://www.jocmr.org/index.php/JOCMR/article/view/1099>
59. Batista N, Cabezas L, Bazet C, Seija V. Bacteriemias por Enterobacterias. Perfiles de resistencia en dos hospitales públicos de Montevideo. *Revista Uruguaya de Patología Clínica.* 2010;46:15-15.
60. Indicadores de Referencia Nacional. Unidad de cuidados intensivos adultos. Año 2012 [Internet]. Ministerio de Salud Pública; 2012. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/tematica/infecciones-asociadas-la-atencion-la-salud?page=1><https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/tematica/infecciones-asociadas-la-atencion-la-salud?page=1>
61. Ecología microbiana de las infecciones hospitalarias más frecuentes en Unidad de cuidados intensivos de adultos. [Internet]. Ministerio de Salud Pública; 2013. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/comunicacion/publicaciones/ecologia-de-las-infecciones-hospitalarias-en-uci-adultos-2013>
62. Papa Ezdra R, Bado I, Cordeiro N, Gutierrez C, Hitateguy P, Seija V, et al. VIM-2-Producing *Pseudomonas* spp. in Uruguay: Sequence Types, Pulsotypes, and Class 1 Integrons Including New Variable Regions Featuring *bla*_{VIM-2} and *bla*_{GES-7}. *Antimicrob Agents Chemother.* septiembre de 2016;60(9):5620-2.
63. Bado I, Papa-Ezdra R, Delgado-Blas JF, Gaudio M, Gutiérrez C, Cordeiro NF, et al. Molecular Characterization of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in the Intensive Care Unit of Uruguay's University Hospital Identifies the First *rmtC* Gene in the Species. *Microb Drug Resist.* septiembre de 2018;24(7):1012-9.

64. Papa-Ezdra R, Grill Diaz F, Vieytes M, García-Fulgueiras V, Caiata L, Ávila P, et al. First three *Escherichia coli* isolates harbouring *mcr-1* in Uruguay. *J Glob Antimicrob Resist*. marzo de 2020;20:187-90.
65. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 23 de febrero de 2016;315(8):801.
66. The Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including The Pediatric Subgroup*, Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012. *Intensive Care Med*. febrero de 2013;39(2):165-228.
67. Garnacho-Montero J, Garcia-Garmendia JL, Barrero-Almodovar A, Jimenez-Jimenez FJ, Perez-Paredes C, Ortiz-Leyba C. Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis*: *Crit Care Med*. diciembre de 2003;31(12):2742-51.
68. Rodríguez-Baño J, Pascual A. Clinical significance of extended-spectrum β -lactamases. *Expert Rev Anti Infect Ther*. octubre de 2008;6(5):671-83.
69. Donnenber MS. Enterobacteriaceae. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. Mandell, Gerald L, R G Douglas, and John E Bennett Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7.^a ed. Philadelphia, PA; 2009.
70. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and Simple Determination of the *Escherichia coli* Phylogenetic Group. *Appl Environ Microbiol*. 1 de octubre de 2000;66(10):4555-8.
71. Clermont O, Christenson JK, Denamur E, Gordon DM. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups: A new *E. coli* phylo-typing method. *Environ Microbiol Rep*. febrero de 2013;5(1):58-65.
72. Daga AP, Koga VL, Soncini JGM, de Matos CM, Perugini MRE, Pelisson M, et al. *Escherichia coli* Bloodstream Infections in Patients at a University Hospital: Virulence Factors and Clinical Characteristics. *Front Cell Infect Microbiol*. 6 de junio de 2019;9:191.
73. Lefort A, Panhard X, Clermont O, Woerther PL, Branger C, Mentre F, et al. Host Factors and Portal of Entry Outweigh Bacterial Determinants To Predict the Severity of *Escherichia coli* Bacteremia. *J Clin Microbiol*. 1 de marzo de 2011;49(3):777-83.
74. Mathers AJ, Peirano G, Pitout JDD. The Role of Epidemic Resistance Plasmids and International High-Risk Clones in the Spread of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev*. julio de 2015;28(3):565-91.
75. Kallonen T, Brodrick HJ, Harris SR, Corander J, Brown NM, Martin V, et al. Systematic longitudinal survey of invasive *Escherichia coli* in England demonstrates a stable population structure only transiently disturbed by the emergence of ST131. *Genome Res*. agosto de 2017;27(8):1437-49.
76. Bogema DR, McKinnon J, Liu M, Hitchick N, Miller N, Venturini C, et al. Whole-genome analysis of extraintestinal *Escherichia coli* sequence type 73 from a single hospital over a

2 year period identified different circulating clonal groups. *Microb Genomics* [Internet]. 1 de enero de 2020 [citado 27 de abril de 2022];6(1). Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/mgen/10.1099/mgen.0.000255>

77. Kim D, Park BY, Choi MH, Yoon EJ, Lee H, Lee KJ, et al. Antimicrobial resistance and virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* affecting 30 day mortality in patients with bloodstream infection. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 5 de octubre de 2018 [citado 5 de abril de 2021]; Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/advance-article/doi/10.1093/jac/dky397/5116214>
78. Potron A, Poirel L, Rondinaud E, Nordmann P. Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae over a 11-year period, 2001 to 2011. *Eurosurveillance* [Internet]. 1 de agosto de 2013 [citado 5 de abril de 2021];18(31). Disponible en: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2013.18.31.20549>
79. Mshana SE, Fritzenwanker M, Falgenhauer L, Domann E, Hain T, Chakraborty T, et al. Molecular epidemiology and characterization of an outbreak causing *Klebsiella pneumoniae* clone carrying chromosomally located bla CTX-M-15 at a German University-Hospital. *BMC Microbiol.* diciembre de 2015;15(1):122.
80. Mammina C, Bonura C, Aleo A, Fasciana T, Brunelli T, Pesavento G, et al. Sequence type 101 (ST101) as the predominant carbapenem-non-susceptible *Klebsiella pneumoniae* clone in an acute general hospital in Italy. *Int J Antimicrob Agents.* junio de 2012;39(6):543-5.
81. Bates DW, Pruess KE, Lee TH. How bad are bacteremia and sepsis? Outcomes in a cohort with suspected bacteremia. *Arch Intern Med.* 27 de marzo de 1995;155(6):593-8.
82. Tumbarello M, Sali M, Trecarichi EM, Leone F, Rossi M, Fiori B, et al. Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase- Producing *Escherichia coli*: Risk Factors for Inadequate Initial Antimicrobial Therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* septiembre de 2008;52(9):3244-52.
83. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Initiation of Inappropriate Antimicrobial Therapy Results in a Fivefold Reduction of Survival in Human Septic Shock. *Chest.* noviembre de 2009;136(5):1237-48.
84. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum -lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 17 de septiembre de 2007;60(5):913-20.
85. Sfeir MM, Askin G, Christos P. Beta-lactam/beta-lactamase inhibitors versus carbapenem for bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents.* noviembre de 2018;52(5):554-70.
86. Girometti N, Lewis RE, Giannella M, Ambretti S, Bartoletti M, Tedeschi S, et al. *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infection: Epidemiology and Impact of Inappropriate Empirical Therapy. *Medicine (Baltimore).* octubre de 2014;93(17):298-309.

87. Cain SE, Kohn J, Bookstaver PB, Albrecht H, Al-Hasan MN. Stratification of the Impact of Inappropriate Empirical Antimicrobial Therapy for Gram-Negative Bloodstream Infections by Predicted Prognosis. *Antimicrob Agents Chemother.* enero de 2015;59(1):245-50.
88. Battle SE, Augustine MR, Watson CM, Bookstaver PB, Kohn J, Owens WB, et al. Derivation of a quick Pitt bacteremia score to predict mortality in patients with Gram-negative bloodstream infection. *Infection.* agosto de 2019;47(4):571-8.
89. Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, et al. Bloodstream Infections Caused by Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacilli: Risk Factors for Mortality and Impact of Inappropriate Initial Antimicrobial Therapy on Outcome. *Antimicrob Agents Chemother.* febrero de 2005;49(2):760-6.
90. Blot S, Vandewoude K, De Bacquer D, Colardyn F. Nosocomial Bacteremia Caused by Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacteria in Critically Ill Patients: Clinical Outcome and Length of Hospitalization. *Clin Infect Dis.* 15 de junio de 2002;34(12):1600-6.
91. Campbel N, Tooley MA. APACHE 11 scoring system on a general intensive care unit: audit of daily APACHE 11 scores and 6-month survival of 691 patients admitted to a general intensive care unit between May 1990 and December 1999. :5.
92. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 23 de febrero de 2016;315(8):762.
93. Meatherall BL, Gregson D, Ross T, Pitout JDD, Laupland KB. Incidence, Risk Factors, and Outcomes of *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *Am J Med.* septiembre de 2009;122(9):866-73.
94. Lin JN, Tsai YS, Lai CH, Chen YH, Tsai SS, Lin HL, et al. Risk Factors for Mortality of Bacteremic Patients in the Emergency Department. *Acad Emerg Med.* agosto de 2009;16(8):749-55.
95. Chou HC, Huang CT, Sheng WH. Differential roles of comorbidity burden and functional status in elderly and non-elderly patients with infections in general wards. *J Formos Med Assoc.* abril de 2020;119(4):821-8.
96. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *J Chronic Dis.* enero de 1987;40(5):373-83.
97. De Rosa FG, Pagani N, Fossati L, Raviolo S, Cometto C, Cavallerio P, et al. The effect of inappropriate therapy on bacteremia by ESBL-producing bacteria. *Infection.* diciembre de 2011;39(6):555-61.
98. Qureshi ZA, Paterson DL, Pakstis DL, Adams-Haduch JM, Sandkovsky G, Sordillo E, et al. Risk factors and outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections. *Int J Antimicrob Agents.* enero de 2011;37(1):26-32.
99. Tumbarello M, Trecarichi EM, Fiori B, Losito AR, D'Inzeo T, Campana L, et al. Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* Bloodstream Infections: Risk Factors and Outcomes. *Antimicrob Agents Chemother.* junio de 2012;56(6):3224-31.

100. Holmgren A, Ljung A, Bremell D. An easy-to-use scoring system for predicting bacteraemia with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacterales in a low-resistance setting. *Infect Dis.* 2 de abril de 2020;52(4):242-8.
101. Pujol M. Epidemiología y control de los microorganismos productores de BLEE nosocomiales. :5.
102. Sousa A, Pérez-Rodríguez MT, Suarez M, Val N, Martínez-Lamas L, Nodar A, et al. Validation of a clinical decision tree to predict if a patient has a bacteraemia due to a β -lactamase producing organism. *Infect Dis.* 2 de enero de 2019;51(1):32-7.
103. Wu UI, Yang CS, Chen WC, Chen YC, Chang SC. Risk Factors for Bloodstream Infections due to Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *J Microbiol Immunol Infect.* agosto de 2010;43(4):310-6.
104. Isendahl J, Giske CG, Tegmark Wisell K, Ternhag A, Nauc ler P. Risk factors for community-onset bloodstream infection with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: national population-based case–control study. *Clin Microbiol Infect.* noviembre de 2019;25(11):1408-14.
105. Lee CH, Chu FY, Hsieh CC, Hong MY, Chi CH, Ko WC, et al. A simple scoring algorithm predicting extended-spectrum β -lactamase producers in adults with community-onset monomicrobial Enterobacteriaceae bacteremia: Matters of frequent emergency department users. *Medicine (Baltimore).* abril de 2017;96(16):e6648.
106. Shitrit P, Reisfeld S, Paitan Y, Gottesman BS, Katzir M, Paul M, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae carriage upon hospital admission: prevalence and risk factors. *J Hosp Infect.* noviembre de 2013;85(3):230-2.
107. Fr ding I, Valik JK, Bolinder L, Nauc ler P, Giske CG. Prediction of bloodstream infection caused by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacterales in patients with suspected community-onset sepsis. *Int J Antimicrob Agents.* junio de 2019;53(6):820-9.
108. Tamma PD, Han JH, Rock C, Harris AD, Lautenbach E, Hsu AJ, et al. Carbapenem Therapy Is Associated With Improved Survival Compared With Piperacillin-Tazobactam for Patients With Extended-Spectrum -Lactamase Bacteremia. *Clin Infect Dis.* 13 de enero de 2015;civ003.
109. Ng TM, Khong WX, Harris PNA, De PP, Chow A, Tambyah PA, et al. Empiric Piperacillin-Tazobactam versus Carbapenems in the Treatment of Bacteraemia Due to Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. Conly J, editor. *PLOS ONE.* 22 de abril de 2016;11(4):e0153696.
110. Bi W, Li B, Song J, Hong Y, Zhang X, Liu H, et al. Antimicrobial susceptibility and mechanisms of fosfomicin resistance in extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains from urinary tract infections in Wenzhou, China. *Int J Antimicrob Agents.* julio de 2017;50(1):29-34.
111. Lu PL, Hsieh YJ, Lin JE, Huang JW, Yang TY, Lin L, et al. Characterisation of fosfomicin resistance mechanisms and molecular epidemiology in extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Int J Antimicrob Agents.* noviembre de 2016;48(5):564-8.

112. STANDARD OPERATING PROCEDURE FOR PULSENET PFGE OF ESCHERICHIA COLI O157:H7, ESCHERICHIA COLI NON-O157 (STEC), SALMONELLA SEROTYPES, SHIGELLA SONNEI AND SHIGELLA FLEXNERI. :16.
113. Adler A, Khabra E, Chmelnitsky I, Giakkoupi P, Vatopoulos A, Mathers AJ, et al. Development and validation of a multiplex PCR assay for identification of the epidemic ST-258/512 KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* clone. *Diagn Microbiol Infect Dis*. enero de 2014;78(1):12-5.
114. Protocolo de PCR para la detección del gen *pilV* en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* productores de KPC . [Internet]. Argentina: SERVICIO ANTIMICROBIANOS, Dpto. Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) - ANLIS “DR. CARLOS G. MALBRAN”. LNR en la resistencia de Antimicrobianos.; Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/2016/04/protocolo-de-pcr-para-la-deteccion-del-gen-pil-v-en-aislamientos-de-klebsiella-pneumoniae-productores-de-kpc/>).
115. Doumith M, Day M, Ciesielczuk H, Hope R, Underwood A, Reynolds R, et al. Rapid Identification of Major *Escherichia coli* Sequence Types Causing Urinary Tract and Bloodstream Infections. Richter SS, editor. *J Clin Microbiol*. enero de 2015;53(1):160-6.
116. Protocolo Red Whonet - Año 2020. Sistemas automatizados. [Internet]. Argentina: Red Whonet Argentina, Instituto Nacional de Enfermedades infecciosas INEI- ANLIS, “DR Carlos G. Malbrán”, Ministerio de Salud, Argentina; 2020 p. 8. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2020/12/Protocolo-Red-Whonet-Sistemas-automatizados-2020-final.pdf>
117. Thomson KS, Cornish NE, Hong SG, Hemrick K, Herdt C, Moland ES. Comparison of Phoenix and VITEK 2 Extended-Spectrum- β -Lactamase Detection Tests for Analysis of *Escherichia coli* and *Klebsiella* Isolates with Well-Characterized β -Lactamases. *J Clin Microbiol*. agosto de 2007;45(8):2380-4.
118. Kim BN, Woo JH, Kim MN, Ryu J, Kim YS. Clinical implications of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *J Hosp Infect*. octubre de 2002;52(2):99-106.
119. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control An agency of the European Union. 2017 [citado 3 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>
120. MAPAS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA – ARGENTINA 2018: RED WHONET [Internet]. Buenos Aires - Argentina.: SERVICIO ANTIMICROBIANOS, Dpto. Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) - ANLIS “DR. CARLOS G. MALBRAN” .; 2018. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/2018/03/mapas-de-resistencia-antimicrobiana-argentina-2018-red-whonet/>
121. Rocha FR, Pinto VPT, Barbosa FCB. The Spread of CTX-M-Type Extended-Spectrum β -Lactamases in Brazil: A Systematic Review. *Microb Drug Resist*. junio de 2016;22(4):301-11.

122. Walkty A, Karlowsky JA, Lagacé-Wiens PRS, Golden AR, Baxter MR, Denisuk AJ, et al. Presence of the narrow-spectrum OXA-1 β -lactamase enzyme is associated with elevated piperacillin/tazobactam MIC values among ESBL-producing *Escherichia coli* clinical isolates (CANWARD, 2007–18). *JAC-Antimicrob Resist*. 18 de marzo de 2022;4(2):dlac027.
123. Pournaras S, Koumaki V, Spanakis N, Gennimata V, Tsakris A. Current perspectives on tigecycline resistance in Enterobacteriaceae: susceptibility testing issues and mechanisms of resistance. *Int J Antimicrob Agents*. julio de 2016;48(1):11-8.
124. Tygacil® (tigecycline) Highlights of prescribing information. Reference ID 337956 [Internet]. EEUU: Food and Drug Administration (FDA); 2005 p. 30. Disponible en: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/021821s026s031lbl.pdf
125. Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment Options for Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections. *Open Forum Infect Dis*. 1 de abril de 2015;2(2):ofv050.
126. Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Piperaki E, Souli M, Daikos GL. Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect*. septiembre de 2014;20(9):862-72.
127. Ruiz J. Transferable Mechanisms of Quinolone Resistance from 1998 Onward. *Clin Microbiol Rev*. 14 de agosto de 2019;32(4):e00007-19, /cmr/32/4/CMR.00007-19.atom.
128. Protocolo de Trabajo Red Whonet Argentina. Acordado en el «XVII Taller WHONET - Argentina». Rosario, Octubre de 2016. Inicio de vigencia desde: 01-01-17. [Internet]. 2017. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2014/10/Protocolo-WHONET-consensuado-2017-final.pdf>
129. Castanheira M, Mills JC, Costello SE, Jones RN, Sader HS. Ceftazidime-Avibactam Activity Tested against Enterobacteriaceae Isolates from U.S. Hospitals (2011 to 2013) and Characterization of β -Lactamase-Producing Strains. *Antimicrob Agents Chemother*. junio de 2015;59(6):3509-17.
130. Stone GG, Newell P, Bradford PA. *In Vitro* Activity of Ceftazidime-Avibactam against Isolates from Patients in a Phase 3 Clinical Trial for Treatment of Complicated Intra-abdominal Infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 23 de abril de 2018;62(7):e02584-17.
131. Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomicin. *Clin Microbiol Rev*. abril de 2016;29(2):321-47.
132. Malbrán DCG. BOLETIN INFORMATIVO Nro. 5 - SEPTIEMBRE 2017. 2017;15.
133. Fernández-Martínez M, Ruiz del Castillo B, Lecea-Cuello MJ, Rodríguez-Baño J, Pascual Á, Martínez-Martínez L, et al. Prevalence of Aminoglycoside-Modifying Enzymes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Producing Extended Spectrum β -Lactamases Collected in Two Multicenter Studies in Spain. *Microb Drug Resist*. mayo de 2018;24(4):367-76.
134. Bremmer DN, Clancy CJ, Press EG, Almaghrabi R, Chen L, Doi Y, et al. KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains That Harbor AAC(6')-Ib Exhibit Intermediate Resistance to Amikacin. *Antimicrob Agents Chemother*. diciembre de 2014;58(12):7597-600.

135. Fernández-Martínez M, Miró E, Ortega A, Bou G, González-López JJ, Oliver A, et al. Molecular identification of aminoglycoside-modifying enzymes in clinical isolates of *Escherichia coli* resistant to amoxicillin/clavulanic acid isolated in Spain. *Int J Antimicrob Agents*. agosto de 2015;46(2):157-63.
136. Johnson JR, Johnston B, Clabots C, Kuskowski MA, Castanheira M. *Escherichia coli* Sequence Type ST131 as the Major Cause of Serious Multidrug-Resistant *E. coli* Infections in the United States. *Clin Infect Dis*. agosto de 2010;51(3):286-94.
137. Nielsen JB, Skov MN, Jørgensen RL, Heltberg O, Hansen DS, Schønning K. Identification of CTX-M15-, SHV-28-producing *Klebsiella pneumoniae* ST15 as an epidemic clone in the Copenhagen area using a semi-automated Rep-PCR typing assay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. junio de 2011;30(6):773-8.
138. Poirel L, Benouda A, Hays C, Nordmann P. Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Morocco. *J Antimicrob Chemother*. 1 de diciembre de 2011;66(12):2781-3.
139. Munilla S. Bacteriemias por *Klebsiella pneumoniae* productoras de β -lactamasas de espectro extendido: que es lo que sabemos de este patógeno versátil. [Internet]. Poster presentado en: Semana académica del Hospital de Clínicas 2020; 2020; Hospital de Clínicas, Montevideo-Uruguay. Disponible en: <http://www.hc.edu.uy/index.php/noticias/1260-semana-academica-2020-conoce-los-91-trabajos-presentados>
140. Maslikowska JA, Walker SAN, Elligsen M, Mittmann N, Palmay L, Daneman N, et al. Impact of infection with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella* species on outcome and hospitalization costs. *J Hosp Infect*. enero de 2016;92(1):33-41.

ABREVIATURAS.

Abreviatura	
BSI	Infecciones del torrente sanguíneo.
MDR	Multidrogo resistente.
BLEE	βetalactamasa de espectro extendido.
CTI	Centro de terapia intensiva.
BGN	Bacilo Gram negativo
CGP	Coco Gram positivo.
XDR	Extremadamente drogo-resistente.
PBPs	Proteínas de unión a penicilina.
IBL	Inhibidor de las βetalactamasas.
MSP	Ministerio de Salud.
FDA	<i>Food and Drug Administration.</i>
TMQR	Mecanismos Transferibles de Resistencia a Quinolonas.
AMEs	Enzimas modificantes de aminoglucósidos.
MH	Mueller Hinton.
qPitt	Score Quick Pitt
ExPEC	<i>E. coli</i> patógeno extra intestinal
PFGE	Pulsed Field Electrophoresis.
MLST	Multilocus Sequence Typing
ST	Secuencetype
ERC	Enfermedad Renal Crónica.
DPCA	Diálisis Peritoneal Continua Ambulatoria.
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa.
BSC	Buffer de suspensión celular.

TE	Tris-EDTA
SDS	Dodecil sulfato de sodio.
BL	Buffer de Lisis
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
TBE	Tris borato-EDTA.
CZA	Ceftazidime-avibactam.
MER	Meropenem.
FOS	Fosfomicina.
IMI	Imipenem.
ERTA	Ertapenem.
COL	Colistin.
AK	Amikacina.
GM	Gentamicina.
TGC	Tigeciclina.
PTZ	Piperacilina-tazobactam.
SXT	Trimetoprim-sulfametoxazol.
FEP	Cefepime.
CIP	Ciprofloxacina.
CAZ	Ceftazidime.
SAM	Ampicilina-sulbactam.
CF	Cefalotina.
CXM	Cefuroxime.
CTX	Cefotaxime.
CRO	Ceftriaxona.
CLR	Claritromicina.
AMP/AMX	Ampicilina/Amoxicilina.

CM	Clindamicina.
VA	Vancomicina.
P	Penicilina.
CFZ	Cefazolina.
ANTIBK	Anti tuberculosis.
MET	Metronidazol
DE	Desvío estándar.
OR	Odds Ratio.
IC	Intervalo de Confianza.
LS	Límite superior.
LI	Límite inferior.

ANEXO 1: APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA DEL HOSPITAL DE CLÍNICAS.

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
HOSPITAL DE CLÍNICAS
"DR. MANUEL QUINTELA"
DEPARTAMENTO DE COMISIONES Y ÁREAS EXTERNAS
COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN

Montevideo, 23 de noviembre de 2016

Se transcribe resolución del Comité de Ética del Hospital de Clínicas de fecha 23 de noviembre de 2016

En relación al Proyecto presentado por el Departamento de Laboratorio de Patología Clínica.

"Caracterización clínica- microbiológica y factores de riesgo de las bacteriemias por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en el Hospital Universitario"

Investigador responsable : Dra. Leticia Caiata

El Comité de Ética de la Investigación del Hospital de Clínicas resuelve aprobar la realización del mismo en esta Institución.

La aprobación otorgada por este Comité de Ética es desde el 23 de noviembre de 2016 hasta la fecha de finalización del Proyecto.-



Prof. Dr. Raúl Ruggia
Coordinador del Comité de Ética de la Investigación

Integrantes del Comité de Ética del Hospital de Clínicas

Prof. Dr. Raúl Ruggia	Coordinador – Ex Director de Neuropediatría
Dra. Gabriela Ballerio	Abogada- Asistente Académica de Dirección
Prof. Adj. Dra. Aurana Erman	Ex- Profesora Adjunta de Neurocirugía Especialista en Medicina Legal
Sra. Eloisa Barreda	Integrante Representante Aduss
Prof. Agda. Lic. Enf. Inés Umpiérrez	Integrante Licenciada en Enfermería
Prof. Adj. Dra. Leticia Cuiñetti	Profesora Adjunta de Farmacología y Terapéutica Especialista en Nefrología y Farmacología
Lic. Psic. Sandra Torres	Secretaria Administrativa

ANEXO 2: VARIABLES EN ESTUDIO

VARIABLES DEMOGRÁFICAS:

-Edad:

Edad en años, según figura en registros médicos.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

-Sexo:

Sexo según consta en la historia clínica.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: masculino / femenino.

-Procedencia:

Localización del paciente al momento de solicitarse el hemocultivo con el que se diagnosticó la bacteriemia por enterobacteria.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: emergencia / internación.

-Piso de internación:

En pacientes internados, servicio desde el que se solicitó el hemocultivo con el que se diagnosticó la bacteriemia por enterobacteria.

Tipo de variable: cualitativa multicotómica.

Categorías:

- Medicina (incluye pisos 2, 8, 11, 12 y 14 nefrología).
- Cirugía (incluye pisos 7, 9, 10, 16 y 17).
- CTI (14 - centro de terapia intensiva).

VARIABLES RELACIONADAS CON COMORBILIDADES Y FACTORES MODIFICANTES DE RIESGO:

-Inmunosupresión:

Pacientes VIH-SIDA o que reciben fármacos como glucocorticoides u otros inmunosupresores (metotrexate, etc).

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si /no.

-Enfermedad hematooncológica o neoplásica.

Presencia de hemopatía maligna o neoplasia sólida maligna según figure en registros médicos (ver tipo de enfermedad hematooncológica/neoplásica).

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si/no.

-Tipo de enfermedad hematooncológica/neoplásica:

Tipo de variable: cualitativa multicotómica.

Categorías de la variable:

- Neoplasia del tubo digestivo (incluye: cáncer de esófago, gástrico, de colon, recto, páncreas, vesícula biliar).
- Neoplasia génitourinaria (incluye: cáncer de vejiga, próstata, mama, cuello uterino, ovario).
- Cáncer de pulmón.
- Hemopatía maligna (incluye: linfoma, leucemia, mieloma múltiple).
- Otra (incluye: meningioma, primitivo desconocido).

-Diabetes mellitus:

Paciente con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1 o tipo 2, según conste en registros médicos.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si / no.

-Enfermedad renal crónica(ERC):

Paciente con diagnóstico de enfermedad renal crónica, según conste en registros médicos.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si / no.

-Presencia de hemodiálisis o diálisis peritoneal (DPCA).

Paciente con ERC que se hemodializa o recibe DPCA, según consta en registros médicos. Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si/no.

-Hepatopatía:

Diagnóstico de hepatopatía, según conste en registros médicos.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica

Categorías: si / no.

-Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC).

Paciente con diagnóstico de EPOC, según conste en registros médicos.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si / no.

-Utilización de dispositivo médico a largo plazo previo al ingreso:

Paciente que previamente a la consulta/ingreso hospitalario era portador de alguno de los siguientes dispositivos médicos: catéter vascular de larga duración (como catéter Hickman, port-a-cath®), sonda vesical, nefrostomía, talla vesical, marcapaso, etc (ver tipo de dispositivo médico).

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si /no.

-Tipo de dispositivo médico a largo plazo

Tipo de variable: cualitativa multicotómica.

Categorías:

- Urinario (incluye: sonda vesical, talla, nefrostomía, cistostomía).
- Endovascular (incluye: fístula arteriovenosa protésica para diálisis, marcapaso, catéteres vasculares varios).
- Otros dispositivos (incluye: derivaciones de líquido cefalorraquídeo, stent sobre vía biliar).

-Paciente institucionalizado:

Paciente que según historia clínica procede de centro de cuidados a largo plazo (residencia de ancianos, centros de rehabilitación a largo plazo, etc).

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si /no.

-Hospitalización en 6 meses previos.

Paciente que estuvo ingresado en hospital universitario u otro centro público o privado, por ≥ 24 horas durante los 6 meses previos a la actual internación, según conste en el registro informático del hospital o en la historia clínica.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si /no.

-Cirugía en 6 meses previos.

Paciente que fue intervenido quirúrgicamente (en el hospital universitario u otro centro público o privado) durante los 6 meses previos a la actual internación, según conste en el registro informático del hospital o en la historia clínica.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si /no.

-Presencia de BLEE previa:

Infección o colonización por enterobacteria productora de BLEE en los 6 meses previos a la actual bacteriemia (cultivo positivo a enterobacteria BLEE a partir de cualquier tipo de muestra de los 6 meses previos, según conste en registro informático del laboratorio).

Tipo de variable: cualitativa dicotómica

Categorías: si /no.

Variables relacionadas al episodio de bacteriemia por enterobacteria:

-Tipo de bacteriemia:

Tipo epidemiológico de la bacteriemia (ver definiciones anteriores de bacteriemia), establecido teniendo en cuenta sitio de adquisición de la infección, tiempo entre bacteriemia e ingreso/alta hospitalaria, presencia de procedimientos médicos previos, antecedentes y otros factores del paciente, como se explicó en anteriores apartados.

Tipo de variable: cualitativa multicotómica.

Categorías:

- Bacteriemia comunitaria.
- Bacteriemia nosocomial.
- Bacteriemia asociada a los cuidados de la salud.

-Foco de la bacteriemia:

Sitio de origen de la bacteriemia (ver definiciones anteriores de bacteriemia) según diagnóstico registrado por el médico tratante y/o por el aislamiento de misma especie de enterobacteria (con mismo antibiotipo) aislada en otra muestra clínica simultánea (o \pm 72 horas de diferencia) respecto al hemocultivo.

Tipo de variable: cualitativa multicotómica.

Categorías:

- Urinario.
- Respiratorio.
- Piel y tejidos blandos.
- Abdominal.
- Bacteriemia asociada al catéter.
- Otro foco (endocardio, sistema nervioso central).
- Bacteriemia sin foco evidente (ver definición más arriba).

-Score qPitt.

Puntaje obtenido en el score "Quick Pitt" (88), descrito previamente (ver marco teórico) para categorizar la severidad de la bacteriemia. Se puntuó positivamente: hipotermia (temperatura < 36°C), falla respiratoria o necesidad de asistencia ventilatoria mecánica, hipotensión o necesidad de vasopresores, falla cardíaca y alteración del estado mental.

Tipo de variable: cuantitativa (discreta).

Categorías:

- Score qPitt < 2.
- Score qPitt ≥ 2.

-Azoemia.

Valor de azoemia (mg/dl), registrado en el sistema informático del laboratorio, obtenido el mismo día que el hemocultivo o si no se cuenta con el mismo, con ±24 horas respecto al hemocultivo, según disponibilidad.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Nota: Rango de referencia para azoemia según Laboratorio del Hospital de Clínicas (adultos): 10-45 mg/dl.

-Creatininemia.

Valor de creatininemia (mg/dl), registrado en el sistema informático del laboratorio, obtenido el mismo día que el hemocultivo. De no contarse con dicho dato se tomará el valor de creatininemia obtenido con una diferencia de hasta 24 horas (±24 horas respecto al hemocultivo, según disponibilidad).

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Nota: Rango de referencia para creatininemia según Laboratorio del Hospital de Clínicas (adultos): 0,40-1,20 mg/dl.

-Leucocitosis.

Valor de leucocitos (mil/mm³) según conste en hemograma obtenido el mismo día que el hemocultivo. De no contarse con dicho dato se tomará el valor de leucocitosis obtenido con una diferencia de hasta 24 horas (± 24 horas respecto al hemocultivo, según disponibilidad).

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Nota: Rango de referencia para leucocitosis según Laboratorio del Hospital de Clínicas (adultos): 4 – 10,5 mil/mm³.

-Neutropenia:

Se considera neutropenia si valor de neutrófilos es $< 1,5$ mil/mm³ en hemograma obtenido el mismo día que el hemocultivo. De no contarse con dicho dato se tomará el valor de leucocitosis obtenido con una diferencia de hasta 24 horas (± 24 horas respecto al hemocultivo, según disponibilidad).

Tipo de variable: cualitativa.

Categorías de la variable: si/no.

Variables relacionadas con la terapéutica y outcome:

-Necesidad de CTI durante la actual internación.

Paciente que, según registros médicos, requirió ingreso a centro de cuidados intensivos durante la actual internación (antes, durante o posteriormente al episodio de bacteriemia por enterobacteria).

Tipo de variable: cualitativa dicotómica

Categorías: si /no.

-Antibióticoterapia previa a la obtención del hemocultivo.

Paciente que recibió cualquier tipo de antibiótico, durante la actual internación, previamente a la obtención del hemocultivo.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica

Categorías: si /no.

-Tipo de antibióticoterapia previa a la obtención del hemocultivo.

Tipo de antibiótico/s administrado/s durante la actual internación, previamente a la obtención del hemocultivo.

Tipo de variable: cualitativa politómica.

Categorías:

Ampicilina-sulbactam, meropenem, piperacilina-tazobactam, ceftriaxona, cefotaxime, ciprofloxacina, cefuroxime, amoxicilina-clavulánico, trimetoprim-sulfa, amikacina, gentamicina, metronidazol, claritromicina, ampicilina, amoxicilina, clindamicina, ceftazidime, vancomicina, penicilina, imipenem, cefazolina, colistin, tratamiento antituberculosis.

-Tratamiento antibiótico empírico para la bacteriemia:

Cuando se administró antibioticoterapia (posterior a la obtención del hemocultivo), para tratamiento del episodio de bacteriemia; antes de obtenerse resultado preliminar (examen directo) o definitivo (identificación y antibiograma) del hemocultivo con el que se realizó el diagnóstico de la bacteriemia por enterobacteria.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica

Categorías: si /no.

-Tipo de antibiótico empírico.

Tipo de antibiótico/s administrado/s empíricamente para el tratamiento de la bacteriemia (posterior a obtención del hemocultivo pero antes de estar disponible el resultado preliminar o definitivo del mismo).

Tipo de variable: cualitativa politómica.

Categorías: piperacilina-tazobactam, meropenem, ceftriaxona/cefotaxime, ampicilina-sulbactam, metronidazol, vancomicina, trimetoprim-sulfametoxazol, ceftazidime, cefuroxime, ciprofloxacina, gentamicina, amikacina, clindamicina, claritromicina, colistin.

-Más de un antibiótico empírico:

Cuando el paciente recibió más de un antibiótico empírico por la bacteriemia (ya sea 2 o más antibióticos administrados **simultáneamente o en forma secuencial**).

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si/no.

-Tratamiento antibiótico empírico activo para la bacteriemia.

Se consideró que el tratamiento antibiótico fue activo cuando la enterobacteria recuperada en hemocultivo fue sensible según antibiograma **frente a al menos uno** de los antibióticos administrados empíricamente.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica

Categorías: si /no.

-Cambio en el tratamiento de la bacteriemia:

Se consideró que existió un cambio en el tratamiento cuando una vez disponible **resultado preliminar/definitivo del hemocultivo**, se **modificó la antibioticoterapia** empírica (bien sustitución por nuevo antibiótico, o suspensión de alguno de los antibióticos del plan en pacientes con bi o triterapia), **o se inició tratamiento antibiótico** en pacientes que no lo venían recibiendo.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: si/no.

-Tipo de cambio en el tratamiento:

Manera en que se modificó el tratamiento empírico, una vez disponible el resultado del hemocultivo.

Tipo de variable: cualitativa politómica.

Categorías:

- Sustitución del antibiótico empírico por nuevo antibiótico.
- Suspensión de algún antibiótico del plan (paciente con bi/triterapia empírica).
- Inicio de antibiótico en paciente **sin** antibioticoterapia empírica

-Tratamiento antibiótico ajustado por el hemocultivo:

En pacientes con cambio en el tratamiento antibiótico, representa el nuevo antibiótico administrado en función del resultado (preliminar/definitivo) del hemocultivo.

Tipo de variable: cualitativa politómica.

Categorías: meropenem, ceftriaxona/cefotaxime, ceftazidime, piperacilina-tazobactam, ciprofloxacina, ampicilina-sulbactam, cefuroxime, trimetoprim-sulfametoxazol.

-Status al egreso:

Condición del paciente cuando abandona el hospital (tipo de alta hospitalaria)

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Categorías: vivo / fallecido.

-Días de internación entre obtención del hemocultivo y egreso.

Duración de la internación en días, entre obtención del hemocultivo que diagnosticó la bacteriemia y egreso hospitalario (fecha solicitud hemocultivo - fecha de egreso).

Tipo de variable: cuantitativa.

ANEXO 3: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA-MICROBIOLÓGICA Y FACTORES DE RIESGO DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO.

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS CLÍNICOS-EPIDEMIOLÓGICOS.

1- DATOS FILIATORIOS:

NºBacteriemia: _____ NOMBRE _____

CI _____ REGISTRO _____ SEXO F M

EDAD _____ FECHA CONSULTA HC ___/___/___ FECHA INGRESO ___/___/___

FECHA DE SOLICITUD HEMOCULTIVO ___/___/___

PROCEDENCIA (servicio desde donde se solicitó el HC):

EMERGENCIA INTERNACIÓN: PISO _____ SALA _____

DIAGNÓSTICO (AL INGRESO) _____

2-COMORBILIDAD & FACTORES DE RIESGO:

VIH/SIDA NEOPLASIA Cuál? _____ ENF. HEMATOONCOLÓGICA

NEUTROPENIA INMUNOSUPRESORES o CORTICOIDES DM

IRC EN HD EN DPCA CIRROSIS o HEPATOPATÍA ALCOHOLISMO

EPOC INSTITUCIONALIZADO HOSPITALIZACIÓN EN 6 MESES PREVIOS

CIRUGÍA EN 6 MESES PREVIOS

INFECCIÓN/COLONIZACIÓN (ANTERIOR AL HC) POR ENTEROBACTERIA BLEE+
FECHA: ___/___/___

USO DE DISPOSITIVOS MÉDICOS (previo al ingreso):

CATÉTER LARGA DURACIÓN SV PERMANENCIA OTRO cual _____

3- INTERNACIÓN ACTUAL:

REQUIRIÓ? INGRESO CI INGRESO CTI VVC IOT&AVM SV SNG

OTRO DRENAJE CIRUGÍA

(Colocar el número de días en la celda correspondiente)

ORDEN DE LOS MOVIMIENTOS INTERNOS				
LOCALIZACIÓN	1	2	3	4
EMERGENCIA				
PISO MEDICINA (2,8,11,12)				
PISO CIRUGÍA (7,9,16)				
CTI				
RECU				
C I (especificar cuál)				
NEFRO				

4- EPISODIO DE BACTERIEMIA:

ENTEROBACTERIA _____ BLEE: SI / NO

PRESENTACIÓN DE LA BACTERIEMIA: FIEBRE SHOCK D.O.M

Disfunciones? _____

Comentarios _____ Azoemia _____ Crea _____

GB _____ FOCO? URINARIO RESPIRATORIO PIEL&TB

ABDOMINAL CATÉTER OTRO _____ SIN FOCO

APARENTE

TIPO DE BACTERIEMIA: COMUNITARIA NOSOCOMIAL ACS

5- ANTIBIOTICOTERAPIA

ATB PREVIO A EXTRACCIÓN HEMOCULTIVO? NO SI CUÁL?

1. _____ desde ___/___/___ hasta ___/___/___

2. _____ desde ___/___/___ hasta ___/___/___

3. _____ desde ___/___/___ hasta ___/___/___

ATB EMPÍRICO X EPISODIO BACTERIEMIA? CUÁL?

1. _____ desde ___/___/___ hasta ___/___/___

2. _____ desde ___/___/___ hasta ___/___/___

FUE ACTIVO PARA EL M.O AISLADO EN HEMOCULTIVO? SI / NO

ANTIBIOTICOTERAPIA AJUSTADA X ANTIBIOGRAMA:

1. _____ desde ___/___/___ hasta ___/___/___

2. _____ desde ___/___/___ hasta ___/___/___

6- EVOLUCIÓN:

FECHA DE EGRESO ___/___/___ ESTATUS: ALTA VIVO FALLECE

DIAS DE FIEBRE DESDE INICIO ATB AJUSTADO POR ANTIBIOGRAMA _____

ANEXO 4: SOLUCIONES UTILIZADAS en PFGE.

*1 Buffer de suspensión celular (BSC) - 100 ml:

	Concentración inicial	Concentración Final	Volumen
Tris	1 M pH 8	0.1 M	10 ml
EDTA	0.5 M pH 8	0.1 M	20 ml
Agua MQEstéril	-	-	Llevar a 100 ml

*2 Buffer TE - 500 ml:

	Concentración inicial	Concentración Final	Volumen
Tris	1 M pH 8	10 mM	5 ml
EDTA	0.5 M pH 8	1 mM	1 ml
Agua MQ estéril	-	-	Llevar a 500 ml

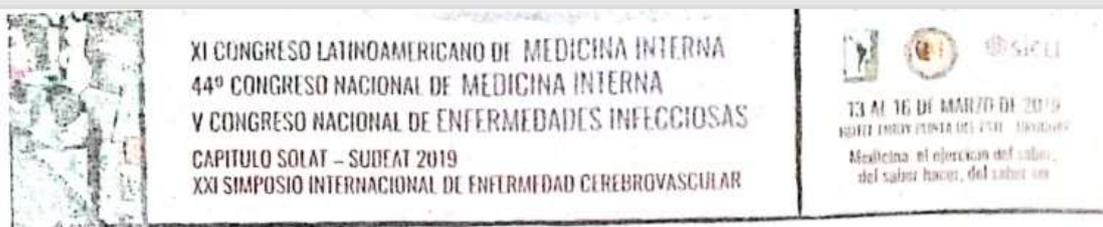
*3 Buffer de lisis (BL) - 20 ml:

	Concentración inicial	Concentración Final	Volumen
Tris	1 M pH 8	50 mM	1 ml
EDTA	0.5 M pH 8	50 mM	2 ml
N-Lauril-Sarcosina	10 %	1 %	2 ml
Agua MQ	-	-	15 ml

*4 Buffer TBE 0.5X

TBE 0.5X	Concentración final	Cantidad
Tris base	89 mM	10.8 g
ÁcidoBórico	89 mM	5.5 g
EDTA	0.1 M pH 8	4 ml
Agua MQEstéril	-	Llevar a 2 litros

ANEXO 5: DIFUSIÓN



COMITÉ ORGANIZADOR

Dr. Mario Llorens

Presidente Congreso SOLAMI

Dr. Leonardo Sosa

Presidente Congreso Nacional de Medicina Interna

Dr. Eduardo Savio

Presidente Congreso Nacional de Enfermedades Infecciosas

Dra. Mabel Guñi

Vicepresidente Congreso SOLAMI

Dra. Mariana Cora

Vicepresidente Congreso Nacional de Medicina Interna

Dra. Zaida Arteta

Vicepresidente Congreso Nacional de Enfermedades Infecciosas

Dra. Andrea Vaucher

Secretaría

Dr. Ricardo Silveira

Tesorero

Dr. Martín Rebella

Protesorero

Dra. Isabel Fernández

Dr. Juan Martín

Punta del Este, 16 de Marzo de 2019

Por la presente dejamos constancia que en el *XI Congreso Latinoamericano de Medicina Interna, 44º Congreso Nacional de Medicina Interna y V Congreso Nacional de Enfermedades Infecciosas*, que se llevaron a cabo del 13 al 16 de Marzo del presente año, en el Centro de Convenciones del Hotel Enjoy Punta del Este, se presentó el trabajo sobre:

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTOR EXTENDIDO EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO

Cuyos autores son:

Leticia Caiata¹, Lucía Araujo¹, Virginia García¹, Ines Bado¹, Verónica Seija², Rafael Vignoli¹
1 - Depto de Bacteriología y Virología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina 2 -



[Print this Page for Your Records](#)

February 21, 2020

Please keep a copy of this email communication for your records:

Congratulations and thank you for accepting to present your abstract as a poster at ASM Microbe 2020. Please be sure to share this information with the co-authors of this abstract.

Please Note: If you applied for a Travel Award you will receive your notification in a separate email by mid-March. Also, Oral abstract presenters will be notified in late-March.

Presenting Author: Leticia Caiata

Control #: 4920

Abstract Title: High Prevalence of St258 in Non-kpc Esbl-producing *K. Pneumoniae* Causing Bloodstream Infections

