

**Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia
Departamento de Bacteriología-Micología**



Título: Estudio integral para la prevención y el control de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas. Hospital "Hermanos Ameijeiras". 2017-2022

**Tesis Presentada en Opción al Grado
Científico de Doctor en Ciencias Médicas**

Autor: Haiyang Yu, M. Sc.

La Habana

2022



Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”

**Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia
Departamento de Bacteriología-Micología**

**Título: Estudio integral para la prevención y el control de
Enterobacteriales productores de carbapenemasas. Hospital
"Hermanos Ameijeiras", 2017-2022**

**Tesis Presentada en Opción al Grado
Científico de Doctor en Ciencias Médicas**

Autor: Haiyang Yu, M. Sc.

Tutores: Dra. Dianelys Quiñones Pérez, Dr. C.

Dr. Alberto Hernández González, Dr. C.

La Habana

2022

AGRADECIMIENTOS

“ Todos los triunfos nacen cuando nos atrevemos a brillar...”

Agradezco de manera especial a mis tutores, la doctora Dianelys Quiñones Pérez y el doctor Alberto Hernández González, por guiarme de manera incondicional en mis primeros pasos por el camino de la ciencia, por sus consejos, su apoyo constante y su dedicación.

A la doctora Yenisel Carmona Cartaya, Niurka Pereda, María Karla y Vismayda, compañeras de trabajo y amigas, quien me brindan sus ayudas incondicionales en el trabajo de laboratorio.

Al profesor Carlos Manuel por dedicarme su tiempo en la revisión crítica del documento.

A todo el personal docente del Instituto, en especial a la profesora Martica y Maribel ya que en todo momento me brindaron el respaldo necesario.

Al doctor Gonzalo Estévez y a la enfermera Valia Ramos del departamento de Epidemiología hospitalaria del Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras" por sus ayudas en la recolección de datos. De igual manera al departamento de Microbiología de dicho hospital, sobre todo a la doctora Marcia Hart.

A la investigadora Vivian Montero-Alejo y todos los miembros de su grupo de laboratorio biomolecular de Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos.

A los profesores del departamento de epidemiología como el profesor Waldemar, el profesor Baly y la profesora Deny Chacón por su asesoramiento y apoyo.

A mi buen amigo Xiang Kong y sus familiares quien sin importar día ni hora me brindan las ayudas siempre que necesité.

A mi esposa Xu Han por apoyarme y mantener viva la esperanza de un excelente resultado aún en los momentos más difíciles.

A mis padres, quien me apoyan en espiritualidad y economía en el camino de la investigación científica.

Abreviaturas

CDC: Centro para el Control y Prevención de Enfermedades, de los Estados Unidos

CLSI: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio

CIM: Concentración inhibitoria mínima

EDTA: Ácido etilendiaminotetracético

EPC: *Enterobacterales* productores de carbapenemasa

ERC: *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos

KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasas

LNR-IAAS: Laboratorio Nacional de Referencia para la vigilancia de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria

LPS: Lipopolisacáridos

MBL: Metallo- β -lactamasa

MDR: Multidrogorresistente

Minsap: Ministerio de Salud Pública

NDM: Nueva Delhi metalo- β -lactamasa

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

PBP: Proteínas de unión a la penicilina

PDR: Pandrogorresistencia

ReLAVRA: Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos

XDR: Extremadrgorresistencia

VIM: Verona integron-encoded metalo- β -lactamasa

SÍNTESIS

Se realizó una investigación observacional en el hospital "Hermanos Ameijeiras" sobre *Enterobacterales* productores de carbapenemasas, factores clínicos, epidemiológicos relacionados con la infección, la colonización, así como la competencia y el desempeño de los médicos en su control. Se caracterizaron 124 aislados clínicos y procesaron 297 hisopados rectales. *Klebsiella pneumoniae* fue predominante (71%). La resistencia antimicrobiana fue elevada, incluso para colistina (25-31%). El uso de esteroides ($p < 0,01$), de dos o más antibióticos ($p=0,01$), la exposición previa a cefalosporinas ($p=0,03$) y carbapenémicos ($p=0,04$), constituyeron factores de riesgo asociados a la infección; la mayor mortalidad fue por bacteriemia y neumonía. Se identificó un 15,5% de portadores fecales en los que se detectó una expansión clonal de *E. coli* y *K. pneumoniae* colonizantes. El uso de sonda urinaria ($p=0,04$), ventilación mecánica ($p=0,044$) y procedimientos quirúrgicos ($p=0,04$) constituyeron los factores de riesgo asociados a la ocurrencia de infección en portadores. Estos resultados y las brechas encontradas en relación con la competencia y el desempeño de los médicos sobre el manejo clínico de la infección por *Enterobacterales* productores de carbapenemasa constituyen una emergencia en el hospital "Hermanos Ameijeiras" y demuestran la necesidad de una estrategia multidisciplinaria para su prevención y control.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. Hipótesis.....	5
2. Objetivos	5
Objetivo general	5
Objetivos específicos	6
3. Novedad científica	6
4. Valor teórico	7
5. Valor práctico	7
I. MARCO TEÓRICO	9
1. Generalidades sobre <i>Enterobacterales</i>	9
Género <i>Escherichia</i>	10
Género <i>Klebsiella</i>	11
Género <i>Enterobacter</i>	11
Género <i>Serratia</i>	12
Grupo <i>Proteus-Morganella-Providencia</i>	12
2. Antibióticos β -lactámicos	12
Estructura química	12
Mecanismo de acción	13
Clasificación y espectro antibacteriano	13
3. Resistencia bacteriana	15
Tipos de resistencia	15
Vías de adquisición de la resistencia:	16
Mecanismos de resistencia bacteriana a los antimicrobianos ^[34] :.....	17
4. Resistencia a carbapenémicos en <i>Enterobacterales</i>	17
4.1. Antibióticos carbapenémicos.....	17
<i>Enterobacterales</i> resistentes a carbapenémicos.....	18
Mecanismos de resistencia a carbapenémicos en <i>Enterobacterales</i>	18
4.2. Carbapenemasas.....	18
Tipos y clasificación de carbapenemasas	19
Características fenotípicas de las carbapenemasas	19
4.3. Métodos de diagnóstico de carbapenemasas en los laboratorios de microbiología.....	21

Test de Hodge modificado	21
Carba NP	21
Prueba de sinergia de discos	22
Inmunocromatografía	22
Espectrometría de masas MALDI-TOF	23
4.4. Métodos moleculares para la identificación bacteriana y detección de genotipos de resistencia	23
5. Epidemiología de las carbapenemasas a nivel global	24
Carbapenemasas clase A	24
Carbapenemasas clase B	24
Carbapenemasas clase D	26
6. Tratamiento de infecciones por <i>Enterobacterales</i> resistentes a carbapenémicos productores de carbapenemasas	26
7. Prevención y control en <i>Enterobacterales</i> resistentes a carbapenémicos productores de carbapenemasas	29
Medidas preventivas fundamentales para los pacientes infectados y colonizados por ERC	29
Vigilancia activa	30
Estudios de epidemiología molecular	30
II. MATERIALES Y MÉTODOS	33
1. Diseño general del estudio	33
2. Diseño específico de los diferentes estudios	38
2.1. Estudio 1 (Estudio de caso-control)	38
2.2. Estudio 2 (Estudio corte-transversal)	40
2.3. Estudio 3 (Estudio exploratorio)	42
3. Procedimientos en el LNR-IAAS, IPK	44
3.1. Conservación de los aislados	44
3.2. Identificación de especies de <i>Enterobacterales</i>	44
3.3. Confirmación de la resistencia a carbapenémicos en aislados de <i>Enterobacterales</i> , objetos de estudio	45
3.4. Detección de producción de carbapenemasas	45
a) Confirmación fenotípica de producción de carbapenemasas	45
b) Identificación del tipo de carbapenemasa en <i>Enterobacterales</i> por el método de inmunocromatografía	46
c) Identificación del tipo genético de carbapenemasa en <i>Enterobacterales</i> por la técnica de PCR	46

3.5. Determinación de susceptibilidad antimicrobiana	48
a) Determinación de la susceptibilidad in <i>vitro</i> a los antibióticos por el método convencional.....	50
b) Determinación de la susceptibilidad in <i>vitro</i> a los antibióticos por el método automatizado (Vitek® 2, bioMérieux).....	50
3.6 Determinación de la relación genética entre aislados de <i>Enterobacterales</i> mediante ERIC-PCR y análisis bioinformático.....	50
4. Consideraciones éticas	52
5. Limitaciones del estudio	52
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
1. Análisis y discusión del primer estudio.....	53
1.1. Conclusión parcial del primer estudio	73
2. Análisis y discusión del segundo estudio	74
2.1. Conclusión parcial del segundo estudio.....	89
3. Análisis y discusión del tercer estudio.....	89
3.1. Conclusión parcial del tercer estudio	101
4. Consideraciones generales.....	101
IV. CONCLUSIONES	103
V. RECOMENDACIONES.....	104
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106
VII. PUBLICACIONES Y EVENTOS CIENTÍFICOS	121
VIII. ANEXOS.....	124

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas constituyen una de las principales causas de muertes a nivel global con 15 millones (26 %) del total de los 57 millones de muertes anuales [1].

En esta contienda repetida entre humanos y bacterias, los humanos utilizan el desarrollo de la ciencia y la tecnología para desarrollar medicamentos antibacterianos y obtener ventaja, pero con el incremento de la resistencia bacteriana a los antibióticos (capacidad de una bacteria para sobrevivir en concentraciones de antibióticos que inhiben o matan a otras bacterias sensibles pertenecientes a la misma especie), las ventajas humanas desaparecen en forma gradual ya que la dinámica de la aparición de la resistencia es mucho más rápida que el descubrimiento de nuevos antibióticos [2, 3].

En la actualidad, el problema mayor de la resistencia a los antibióticos se observa en el ámbito hospitalario. En 2019, mueren 1.27 millones de personas a consecuencia directa de la resistencia antimicrobiana (RAM) debido a infecciones por patógenos multidrogorresistentes, entre ellos bacilos gramnegativos nosocomiales como especies de *Enterobacterales* (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*), *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* donde más del 70% de las muertes atribuibles a la RAM están asociadas a la resistencia a los antibióticos β -lactámicos (cefalosporinas y los carbapenémicos) y a las fluoroquinolonas [4].

Las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria (IAAS) se define como aquellas que son causadas por un agente infeccioso o su toxina a partir de las 48 horas del ingreso hospitalario, sin que exista evidencia de infección activa o incubación en el momento de la hospitalización. Estas constituyen una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial exacerbadas por la RAM entre los patógenos nosocomiales [5, 6].

En la última década, la infección por *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos (ERC) se convierte en un importante problema de salud pública a nivel global por la diseminación de clones de alto riesgo epidemiológico con una tendencia ascendente significativa de las IAAS [7]. Entre las infecciones más frecuentes se citan las infecciones del tracto urinario, la infección del torrente

sanguíneo, la neumonía asociada a la ventilación mecánica, las infecciones intrabdominales, entre otras, las que cursan con una tasa de letalidad elevada, sobretodo, en pacientes con enfermedades subyacentes. La estadías hospitalarias prolongadas, el uso de los dispositivos médicos y la exposición a diversos antimicrobianos constituyen los principales factores de riesgos para contraer las mismas o favorecer la aparición de resistencia en la microbiota bacteriana autóctona a través del mecanismo de presión selectiva [8, 9].

El manejo terapéutico de las infecciones por ERC plantea grandes desafíos para la evolución favorable del paciente y el control de infecciones por las escasas opciones terapéuticas. En este contexto, la OMS publica en 2017 una lista de “patógenos prioritarios” entre los que se encuentran: *Enterobacterales*, *A. baumannii* y *P. aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos y ocupan estos el nivel de prioridad crítica. La lista tiene como objetivo guiar y promover la investigación y el desarrollo de nuevos antibióticos como parte de las actividades para combatir la RAM [10].

La emergencia de ERC es consecuencia de una serie de mecanismos: la producción enzimática, como las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) más la alteración de la permeabilidad de la membrana, carbapenemasas, los sistemas de expulsión activos o por combinación de mecanismos [11]. Sin embargo, la producción de las enzimas carbapenemasas es el mecanismo de mayor repercusión clínica, microbiológica y epidemiológica. Entre estas enzimas, se citan con mayor frecuencia las β -lactamasas de clase A tipo KPC, las metalo- β -lactamasa de clase B tipo New Delhi metalo- β -lactamasa (NDM), la metalo- β -lactamasa codificada por el integrón Verona (VIM) e IMP y las β -lactamasas clase D tipo OXA-48 y enzimas relacionadas [11].

La presencia de otros mecanismos de resistencia concomitantes en las bacterias productoras de carbapenemasas es frecuente porque sus genes codificantes se insertan en elementos genéticos móviles (plásmidos, transposones, integrones) lo que origina cepas extremadrogresistentes (XDR) cuando los microorganismos son sensibles a una o dos categorías de antimicrobianos y pandrogresistentes (PDR) cuando los aislados bacterianos son resistentes a todas las clases de antibióticos disponibles [12], esto refuerza su impacto clínico y epidemiológico al transmitirse,

de forma horizontal, los genes de bacteria a bacteria (incluso entre bacterias pertenecientes a distintos géneros y especies) lo que contribuye a la emergencia y a la propagación de microorganismos multirresistentes con la consiguiente ocurrencia de brotes epidémicos ^[13]. Esta alta capacidad de diseminación epidémica no solo es intrahospitalaria sino también inter y extrahospitalaria ^[14].

Los pacientes colonizados por *Enterobacterales* productores de carbapenemasas (EPC) constituyen un reservorio de propagación silente de estos patógenos donde la contención de esta expansión es una prioridad asistencial en los centros sanitarios, así como una prioridad de salud pública a nivel nacional, regional y global. Por lo tanto, además del conocimiento generado por el diagnóstico microbiológico de los pacientes infectados, son necesarios los estudios de vigilancia epidemiológica que permitan una detección precoz de los pacientes colonizados por este tipo de bacterias. Esto es una de las recomendaciones de la Guía Mundial para la Prevención y el Control de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* resistentes a los carbapenémicos causante de IAAS, la cual reconoce que la realización de cultivos de vigilancia epidemiológica en estos patógenos produce cambios importantes en su epidemiología ^[10].

La región de América Latina no escapa de la emergencia de carbapenemasas con la consiguiente repercusión clínica, epidemiológica, económica y social. En julio de 2010, se emite la primera alerta epidemiológica por la Organización Mundial de la Salud/Organización Panamericana de la Salud (OMS/OPS) al notificarse el primer paciente infectado por *K. pneumoniae* productora de KPC. Entre los años 2011 y 2014, se suscitan cuatro alertas nuevas por su incremento acelerado y por la diseminación de carbapenemasa de tipo NDM en la región ^[15, 16]. En el año 2021, se emite la quinta alerta por la emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas (coproducción de NDM y KPC) en *Enterobacterales* en Latinoamérica y El Caribe relacionado con la pandemia COVID-19 ante el uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro ^[17].

El manejo terapéutico preciso y oportuno de una infección severa por EPC es crucial en tanto la demora de este cuatricula la mortalidad ^[18]. Por tanto, el conocimiento adecuado y las habilidades de los médicos de asistencia sobre el

manejo terapéutico correcto y la aplicación de las estrategias de prevención y control de las infecciones por EPC imponen un freno al desarrollo y a la diseminación de bacterias multirresistentes con la consiguiente reducción de la morbimortalidad.

La guía del CDC de EE. UU. recomienda evaluar los conocimientos, actitudes y prácticas de los profesionales con respecto a este tema para identificar necesidades en capacitación e identificar barreras para la implementación de las medidas de control y prevención anteriormente descritas ^[19].

En Cuba, desde el primer reporte de infección por *Enterobacterales* productores de carbapenemasa (*Klebsiella pneumoniae*) en 2011 se constata un incremento de la incidencia de infecciones por patógenos productores de este mecanismo emergente con marcado ascenso, mientras la diseminación entre diferentes especies de diferentes géneros de bacilos gramnegativos marca también la emergencia epidemiológica en el país ^[20].

La primera notificación en Cuba de carbapenemasa deriva de un brote en el hospital "Hermanos Ameijeiras" en 2011 y acorde a los datos de la vigilancia local del hospital se detecta un aumento de carbapenemasas tipo metalo- β -lactamasa durante 2013 con 5,9% de tipo NDM en comparación con 1,2% del tipo KPC donde el orden *Enterobacterales* es el que prevalece ^[21].

Por tanto, es imprescindible la caracterización clínica, microbiológica y epidemiológica de EPC en el hospital "Hermanos Ameijeiras" ante las escasas o nulas opciones terapéuticas y la mortalidad asociada. Asimismo, es importante realizar los cultivos de vigilancia epidemiológica para la detección de portadores fecales (colonización gastrointestinal), dando cumplimiento a una de las recomendaciones de la OMS para la prevención y el control de la diseminación de bacilos gramnegativos resistentes a carbapenémicos^[22]. Además, es necesario conocer la competencia y el desempeño de los médicos con respecto a este tema para identificar necesidades de capacitación e identificar brechas en la implementación de las medidas de control y prevención descritas frente a esta emergencia.

Hasta la fecha no se conocen estudios de este tipo en el país que aborden de forma integral la problemática de las infecciones por EPC en las instituciones de salud.

En este contexto se inserta el trabajo, a través del cual se formulan las siguientes preguntas de investigación.

¿Cuál es el comportamiento clínico-epidemiológico de las infecciones por EPC en el hospital "Hermanos Ameijeiras" y qué factores de riesgos la favorecen?

¿Es prevalente la colonización intestinal por EPC en pacientes hospitalizados en el hospital "Hermanos Ameijeiras"? ¿Existe relación entre colonización e infección?

¿Cuáles son las características microbiológicas de EPC que infectan y colonizan a los pacientes?

¿Cuál es la mortalidad de los pacientes con infección por EPC y qué relación existe con la terapia antibiótica prescrita?

¿Existe competencia y desempeño de los médicos de asistencia en el manejo clínico, la prevención y el control de las infecciones por EPC?

1. Hipótesis

Enterobacterales productores de carbapenemasas identificados en el hospital "Hermanos Ameijeiras", causan infección severa en pacientes con factores de riesgo y favorecen la circulación de aislados XDR y PDR, lo que dificulta el manejo clínico y empeora el escenario epidemiológico, dada la transmisión silente desde portadores fecales y la falta de competencia y de desempeño de los médicos de asistencia en el manejo terapéutico y la prevención y el control de las infecciones.

2. Objetivos

Objetivo general

Caracterizar el comportamiento clínico, microbiológico y epidemiológico de las infecciones por *Enterobacterales* productores de carbapenemasas en el hospital "Hermanos Ameijeiras" entre 2017-2022, así como el nivel de conocimientos de los médicos de asistencia para control integral de las infecciones por EPC.

Objetivos específicos

- Describir las características clínico-epidemiológicas y los factores asociados en pacientes infectados y colonizados por EPC en el hospital "Hermanos Ameijeiras".
- Identificar las especies de *Enterobacterales* productoras de carbapenemasas en los pacientes infectados y colonizados, su resistencia antimicrobiana y genotipos circulantes.
- Evaluar la terapia antimicrobiana frente a las infecciones por EPC y su relación con la mortalidad.
- Determinar la relación genética entre aislados de *Enterobacterales* colonizantes intestinales y entre estos y los aislados extraintestinales causantes de infección tras colonización.
- Explorar la competencia y el desempeño de los médicos de asistencia en el manejo clínico, prevención y control de las infecciones por EPC.

3. Novedad científica

La novedad científica de la presente investigación descansa en que esta:

- Aporta al conocimiento desde un enfoque multidisciplinario la problemática de EPC en un hospital de tercer nivel en Cuba, lo que demuestra, su impacto clínico, epidemiológico y terapéutico con diseminación en diferentes especies del orden.
- Se muestra la emergencia de EPC en diferentes servicios del hospital "Hermamos Ameijeiras", con evidencia científica de tipos genéticos de carbapenemasas y la coproducción de dos tipos de carbapenemasas y la circulación de especies de *Enterobacterales* extremadrogorresistentes y pandrogorresistentes en el hospital.
- Se realizan los primeros estudios de epidemiología molecular en aislados colonizantes intestinales de *Enterobacterales* lo que evidencia la circulación de clones productores de diferentes tipos de carbapenemasas con diseminación intrahospitalaria.

- Se conoce, por primera vez, el estado de portador fecal de EPC en Cuba lo que demuestra la condición de pacientes hospitalizados como reservorios silentes en la diseminación de las diferentes especies en el hospital y el riesgo a la comunidad.
- El estudio sobre la competencia y el desempeño de los médicos de asistencia en el manejo clínico, prevención y control de las infecciones por EPC muestra las brechas de conocimientos y de habilidades de los médicos sobre esta emergencia .

4. Valor teórico

- Se incorpora al conocimiento sobre EPC en un hospital de tercer nivel en La Habana, elementos novedosos sobre aspectos clínicos, microbiológicos y epidemiológicos de diferentes especies tanto colonizantes como causantes de infecciones. Los diferentes estudios conforman un trabajo integrador con un enfoque multidisciplinario sobre EPC y constituye un documento de carácter científico que se puede utilizar como referencia en estudios futuros.

5. Valor práctico

- Este trabajo permite el perfeccionamiento de la vigilancia de carbapenemasas en el hospital "Hermanos Ameijeiras" y por ende contribuye a la vigilancia nacional de esta emergencia en el país.
- Brinda herramientas científicas que contribuyen a fortalecer el Programa de Prevención y Control de las IAAS en el hospital al aportar resultados sólidos sobre las implicaciones de EPC en el orden clínico, epidemiológico y su comportamiento microbiológico.
- Los resultados de los estudios de susceptibilidad antimicrobiana, añade valor al análisis de las políticas de uso de antimicrobianos vigentes en el hospital frente a las infecciones producidas por *Enterobacterales* multidrogorresistentes y evidencia la necesidad de introducir nuevos antimicrobianos para el control de la infección por EPC y la reducción de la mortalidad asociada.

- La evidencia de diseminación de un mismo aislado entre diferentes servicios y la ocurrencia de infección tras colonización constituye una alerta para fortalecer las medidas de prevención y control de la infección y la necesidad de optimizar el uso de antibióticos, principalmente, los carbapenémicos.
- La experiencia acumulada con la realización de los cultivos de vigilancia epidemiológica para EPC facilita la implementación de los mismos en el hospital "Hermanos Ameijeiras", así como su introducción en otros hospitales del país.
- El estudio sobre la competencia y el desempeño de los médicos de asistencia en el manejo clínico, la prevención y el control de las infecciones por EPC contribuye al perfeccionamiento de las normas, procedimientos y políticas terapéuticas para EPC, además, visualiza la necesidad de un plan de formación continua en la temática para superar brechas detectadas y capacitar a otros profesionales de la salud en el control de las infecciones por patógenos hospitalarios productores de carbapenemasas.

I. MARCO TEÓRICO

I. MARCO TEÓRICO

1. Generalidades sobre *Enterobacterales*

El orden *Enterobacterales* se encuentra conformada por un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas, que comprende seis familias, más de 50 géneros y cientos de especies, se puede diferenciar entre patógenos prioritarios y colonizadores habituales del tracto gastrointestinal. Las especies pertenecientes a este orden son bacilos o cocobacilos cuyo tamaño oscila entre 0,3 µm por 0,6-6 µm. No forman esporas, pueden ser móviles debido a que poseen flagelos peritricos o inmóviles [23].

Desde el punto de vista bioquímico se caracterizan por ser catalasas positivas, oxidasas negativas, reducen los nitratos a nitritos y son capaces de degradar la glucosa y una gran variedad de hidratos de carbono que sirven para su identificación bioquímica a nivel de especies.

Enterobacterales poseen factores de virulencia importantes como son: la presencia de fimbrias, la cápsula y el lipopolisacárido (LPS) de la pared celular, la mayor parte de ellas son capaces de producir fimbrias o pili, que son responsables de la unión a otras bacterias y a células del huésped. Hay especies que producen cápsulas de naturaleza polisacárida, las cuales pueden estar rígidas o laxas (glucocálix), que evitan la activación del sistema de complemento y la fagocitosis [23].

Como se puede apreciar en la figura I.1 la pared celular de *Enterobacterales*, al igual que en otras bacterias gramnegativas, tiene una estructura multilaminar: La membrana interna consiste en una doble capa de fosfolípidos y proteínas que regulan el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas. La pared celular está constituida por el periplasma, que contiene una delgada capa de peptidoglucano dentro del espacio periplásmico con una elevada concentración de proteínas y la membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos, que incluyen LPS, lipoproteínas fijadas al péptidoglucano, proteínas multiméricas que forman porinas, las cuales facilitan el paso de diversas sustancias (incluidos antibióticos β-lactámicos) y otras proteínas de membrana externa [23].

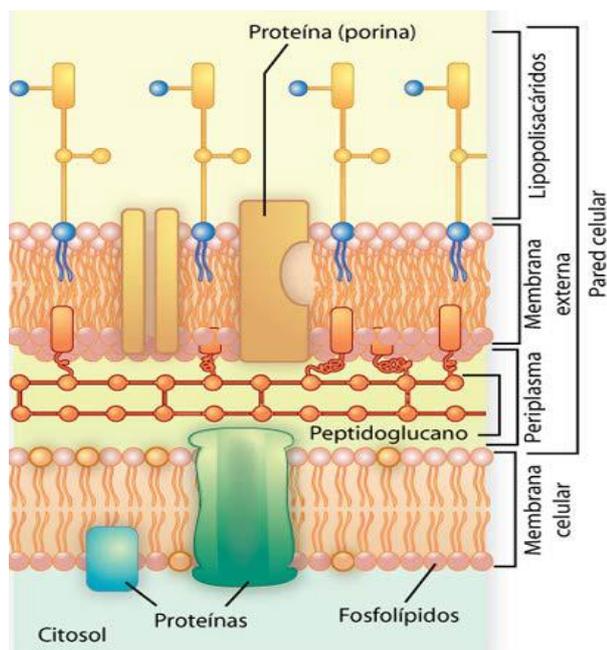


Figura I.1. Estructura de la membrana y pared celular de *Enterobacteriales*. (Fuente: Ruiz G, 2016).

El LPS está formado por un oligosacárido con capacidad antigénica conocido como antígeno O y una parte lipídica, que constituye un factor de virulencia importante denominado lípido A, o endotoxina^[23].

Entre las enterobacterias es frecuente la presencia de elementos genéticos móviles: plásmidos, transposones y prófagos que codifican nuevos antígenos, factores de virulencia, rutas metabólicas alternativas y resistencia a antibióticos. A pesar de que la transferencia de genes cromosómicos (recombinación) es poco habitual entre enterobacterias, la transferencia de elementos genéticos móviles es un fenómeno muy frecuente tanto entre bacterias de la misma especie como entre géneros diferentes ^[24].

Los géneros *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Morganella* incluyen las *Enterobacteriales* más relevantes, según su importancia clínica.

Género *Escherichia*

Características bioquímicas: oxidasa negativo, fermentan glucosa y lactosa, producen gas, no producen ácido sulfhídrico, móviles, indol positivo (excepto *E.*

vulgaris), rojo metilo positivo, vogues proskauer negativo, citrato de simmons negativo, ureasa negativa, lisina y ornitina descarboxilasa positivo [25].

Escherichia coli (*E. coli*) es la especie más común a nivel clínico responsable de un gran número de enfermedades infecciosas, desde enteritis o gastroenteritis, hasta la colonización de una variedad de tejidos y órganos, es una de las especies gram negativas causantes de sepsis bacteriana debido a la producción de endotoxinas. Cabe destacar que *E. coli* extraintestinal es el agente etiológico causante del mayor número de ITU (Infección del tracto urinario) a nivel mundial, destaca aquí su importancia y caracterización [26].

Género *Klebsiella*

Características bioquímicas: oxidada negativo, fermenta glucosa y lactosa, no produce ácido sulfhídrico, motilidad negativo, la mayoría son indol negativo excepto *Klebsiella oxytoca* (*K. oxytoca*). *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) es la especie más representativa de este género, responsable de causar neumonía fatal en la mayoría de los casos, debido a diversos mecanismos de resistencia que adquiere con el pasar del tiempo [25].

Entre otros tipos de afecciones causadas por *K. pneumoniae* se puede citar: infecciones complicadas del tracto urinario (ITUc), bacteriemia o sepsis, meningitis bacteriana, e infecciones relacionadas con la utilización de material quirúrgico, debido a que se encuentra muy bien adaptada al ambiente nosocomial [27].

Género *Enterobacter*

Características bioquímicas: oxidasa negativo, catalasa positivo, fermenta la glucosa y lactosa, no produce ácido sulfhídrico y la motilidad es positiva [25].

Enterobacter cloacae (*E. cloacae*) es la especie más representativa en cuanto a los hallazgos en muestras clínicas, se encuentra distribuida en aguas, suelos, vegetales y forma parte de la flora gastrointestinal. Se asocia a una variedad de infecciones oportunistas que afectan vías urinarias, respiratorias, heridas cutáneas y en ocasiones puede causar septicemia y meningitis [28].

Género *Serratia*

Características bioquímicas: oxidasa positiva, fermenta la glucosa, la mayoría no fermenta la lactosa, no produce ácido sulfhídrico, motilidad positiva en muchas de sus especies [25]. Una de sus principales características es la producción de tres enzimas hidrolíticas: lipasa, gelatinasa y ADNasa. *Serratia marcescens* (*S. marcescens*) es la especie más importante del género *Serratia*, a menudo se asocia a una variedad de infecciones humanas, en particular neumonía y septicemia, en pacientes con neoplasias que reciben agentes quimioterapéuticos [29].

Grupo *Proteus-Morganella-Providencia*

Los miembros de este grupo desaminan fenilalanina, son móviles, se multiplican en medio con cianuro de potasio (KCN) y fermentan la xilosa. El movimiento de las bacterias del género *Proteus* es activo por medio de flagelos peritricos, lo que da como resultado un “enjambre” en medios sólidos a menos que el enjambre se inhiba por sustancias químicas, por ejemplo, feniletanol o medio de CLED (deficiente en cistina-lactosa-electrolitos). Las bacterias del género *Proteus* y la *Morganella morganii* (*M. morganii*) producen ureasa, en tanto que las bacterias del género *Providencia* no suelen producirla. El grupo *Proteus-Providencia* fermenta la lactosa con mucha lentitud o no la fermenta [30].

2. Antibióticos β -lactámicos

Los antibióticos β -lactámicos constituyen uno de los grupos más importantes dentro de la terapéutica antiinfecciosa. En la actualidad, son los antimicrobianos más prescritos porque son el tratamiento de elección en numerosas infecciones.

Estructura química

Todos los fármacos pertenecientes a este gran grupo presentan en su estructura química el anillo β -lactámico, responsable del mecanismo de acción, de la escasa toxicidad directa y del principal mecanismo de resistencia (β -lactamasas). A este anillo β -lactámico se encuentra unido un anillo secundario, que es diferente en cada grupo de β -lactámicos, ambos forman un núcleo. La asociación de diferentes tipos de cadenas lineales a este núcleo, unido a pequeñas alteraciones en la

estructura química, determinan las diferencias en cuanto al espectro antibacteriano, a las propiedades farmacocinéticas y a la resistencia a las β -lactamasas.

Mecanismo de acción

Los antibióticos β -lactámicos son agentes bactericidas que producen su efecto mediante dos mecanismos principales ^[31]:

- **Inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana.** Se relaciona con la inhibición de la última etapa de biosíntesis del peptidoglucano: la formación de las uniones cruzadas (transpeptidación). Las enzimas transpeptidasas y carboxipeptidasas que participan en esta etapa son también capaces de unirse de forma covalente a las penicilinas y a otros antibióticos β -lactámicos. De ahí que se denominen proteínas de unión a la penicilina (PBP). Para que actúen los β -lactámicos, es preciso que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que este es el momento en que se sintetiza la pared celular.
- **Activación de una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglucano.** Las cepas que carecen de autolisina inhiben su crecimiento en presencia de β -lactámico, pero no se destruyen del todo.

En general, el espectro de los β -lactámicos incluye bacterias grampositivas, gramnegativas y espiroquetas. No son activos sobre los micoplasmas (porque no tienen pared celular) ni sobre bacterias intracelulares como las clamidias o las rickettsias, ya que no tiene capacidad de penetración dentro de las células. La resistencia natural de las micobacterias se debe a la producción de β -lactamasas o a una penetración lenta debida a las características de la pared^[31].

Clasificación y espectro antibacteriano

La clasificación de los antibióticos β -lactámicos así como su espectro antibacteriano se muestra en la siguiente tabla:

Tabla.I.1. Clasificación y espectro antibacteriano de los antibióticos β -lactámicos

Grupo	Espectro
Penicilinas	<p>➤ Sensibles a las β-lactamasas:</p> <p>Activas frente a los cocos grampositivos, los cocos gramnegativos, los bacilos grampositivos y las espiroquetas: penicilina G</p> <p>Activas frente a <i>Enterobacterales</i> (aminopenicilinas): amoxicilina, ampicilina</p> <p>Activas frente a <i>Enterobacterales</i> y <i>Pseudomonas</i>: piperacilina, azlocilina, mezlocilina, carbenicilina, ticarcilina</p> <p>➤ Resistentes a las β-lactamasas:</p> <p>Antiestafilocócicas: cloxacilina, meticilina, nafcilina, dicloxacilina</p> <p>Combinadas con inhibidores de las β-lactamasas : amoxicilina con ácido clavulánico, piperacilina con tazobactam, ampicilina con sulbactam, ticarcilina con ácido clavulánico</p>
Cefalosporinas	<p>Todas las cefalosporinas son inactivas frente a enterococos, <i>Listeria monocytogenes</i> y estafilococos resistentes a meticilina.</p> <p>➤ Primera generación: activas frente a las bacterias grampositivas.</p> <p>Ejemplos: Cefazolina, cefalotina, cefradina, etc.</p> <p>➤ Segunda generación: activas frente a bacilos gramnegativos como <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Moraxella catarrhalis</i> y algunas enterobacterias. Mantienen cierta actividad frente a los cocos grampositivos.</p> <p>Ejemplos: cefuroxima, cefonicida, cefamandol, etc.</p> <p>➤ Tercera generación: activas frente a estreptococos y a bacilos gramnegativos.</p> <p>Ejemplos: ceftriaxona, cefotaxima, cefoperazona, ceftazidima etc.</p> <p>➤ Cuarta generación: tienen el mayor espectro de actividad de todos los grupos de cefalosporinas.</p> <p>Ejemplos: cefepima, cefpiroma</p>
Carbapenémicos	<p>El espectro antibacteriano de este grupo es el más amplio de la clase de los β-lactámicos, sobre todo porque son estables frente a las β-lactamasas. Carecen de actividad frente a estafilococos resistentes a meticilina, enterococos resistentes a ampicilina y <i>Stenotrophomonas maltophilia</i></p>

	Elemplos: imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem
Monobactámicos	El aztreonam (el único monobactámico disponible para uso clínico) posee una actividad excelente sobre bacterias gramnegativas aerobias y facultativas. Carece de actividad frente a bacterias grampositivas y bacterias anaerobias.

3. Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es una evidencia de la teoría de la evolución natural de las especies planteada por Darwin. “Las bacterias desarrollaron diversos mecanismos para hidrolizar y expulsar antibacterianos, así como lograron modificar su metabolismo al ser expuestas a diversos antimicrobianos para su supervivencia y multiplicación”. Este fenómeno se conoce como selección natural.

La resistencia es la pérdida de la sensibilidad de un microorganismo a un antimicrobiano. La misma puede ser: cromosómica (transferencia vertical de genes), que se origina por una mutación en el material genético del microorganismo y se transmite a los descendientes, o plasmídica (transferencia horizontal de genes) la cual representa el mayor riesgo por la rápida diseminación de genes de resistencia entre distintas especies o incluso entre diferentes géneros bacterianos [32].

Entre los elementos más importantes que se relacionan con la aparición de la resistencia antimicrobiana están: uso indiscriminado de antimicrobianos dado por profilaxis antibiótica inapropiada, terapia antimicrobiana con duración o dosis inadecuada, tratamiento antibiótico en enfermedades no bacterianas, falta de conocimiento en cuanto a los perfiles de sensibilidad de los antimicrobianos a nivel regional y automedicación por parte del paciente [33].

Tipos de resistencia

Natural o intrínseca. Estable, transmisión vertical (células hijas). Todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permite tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir en caso que se emplee ese antibiótico (Tabla I.2).

Tabla I.2. Patrones de resistencia natural en diferentes especies de *Enterobacteriales*

Especies	AMP	AMC	TIC	C1G	FOX	CXM	GEN	TET	COL	NIT
<i>Klebsiellas</i>	R		R							
<i>Citrobacter koseri</i>	R		R							
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	R		R							
<i>Citrobacter freundii</i>	R	R		R	R	r				
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R		R	R	r				
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R		R	R	r				
<i>Hafnia alvei</i>	R	R		R	R					
<i>Serratia marcescens</i>	R	R		R	r	R				
<i>Proteus mirabilis</i>								R	R	R
<i>Proteus vulgaris</i>	R			R		R			R	R
<i>Morganella morganii</i>	R	R		R	r	R			R	R
<i>Providencias</i>	R	R		R	r		R		R	R
<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R	R	R	R				

(Fuente: Ferran N, 2010)

Leyenda: AMC: amoxicilina-ácido clavulánico; AMP: ampicilina; COL: colistina; CXM: cefuroxima; C1G: cefalosporinas de primera generación; FOX: cefoxitina; GEN: gentamicina; TET: tetraciclina; TIC: ticarcilina; NIT: nitrofurantoína; R: resistente; r: halos reducidos o CIM elevadas pero dentro del rango de sensibilidad.

Adquirida. Es el tipo de resistencia más frecuente y que mayor relevancia clínica presenta. Se encuentra en aquellos microorganismos que en un principio son sensibles a un determinado antibiótico y que, mediante diversos mecanismos, adquieren la capacidad de ser resistentes a dicho compuesto.

Vías de adquisición de la resistencia:

- Mutaciones en el cromosoma (espontáneas, estables y de transmisión vertical de generación en generación).

- Intercambio de genes de resistencia por transferencia horizontal a través de diferentes procesos: conjugación (vía plásmidos u otro material genético movable como integrones y transposones), traducción, transformación. De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de estar en contacto con estos.

Mecanismos de resistencia bacteriana a los antimicrobianos ^[34]:

- Enzimas inactivantes de antibiótico.
- Impermeabilidad de la membrana.
- Alteración de porinas y/o polisacárido.
- Eflujo (Bombas de expulsión).
- Modificación del sitio blanco (diana donde actúa el antibiótico).
- Vías metabólicas alternativas.
- Protección citoplasmática del sitio blanco

4. Resistencia a carbapenémicos en *Enterobacterales*

4.1. Antibióticos carbapenémicos

Los carbapenémicos son antimicrobianos β -lactámicos eficaces y muy potentes contra muchas bacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), se consideran de último recurso y se administran por vía intravenosa. Los agentes carbapenémicos tienen una estructura muy singular, en general, se define por el carbapenem acoplado al anillo β -lactámico, que proporciona protección contra la mayoría de las β -lactamasas y por lo tanto poseen una actividad antibacteriana prolongada. Por lo tanto, los carbapenémicos se consideran antimicrobianos eficaces para el tratamiento de infecciones invasivas y mortales debido a su "efecto letal independiente de la concentración" en las bacterias infectantes.

***Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos**

En la guía para el control de los *Enterobacterales* resistente a carbapenémicos (CDC, 2015), se define como ERC los que cumplen una de las siguientes tres condiciones:

1. Resistencia a cualquier carbapenémico (imipenem, meropenem, doripenem, ertapenem);
2. Producción de carbapenemasas;
3. Si es resistencia intrínseca al imipenem (por ejemplo, *Morganella morganii*, *Proteus sp.*, *Providencia sp.*), deben ser resistentes a otros carbapenémicos (por ejemplo, meropenem, ertapenem, doripenem).

Mecanismos de resistencia a carbapenémicos en *Enterobacterales*

Existen tres mecanismos principales en *Enterobacterales* que conducen a la resistencia a los carbapenémicos [34]:

1. La hidrólisis enzimática de los carbapenémicos mediante carbapenemasas, enzimas que descomponen los carbapenémicos.
2. La expresión de bombas de eflujo, que extruyen, de forma activa, los carbapenémicos de la célula bacteriana.
3. La reducción de la permeabilidad de la membrana externa mediante la producción de β -lactamasas (AmpC) en combinación con alteraciones de la membrana celular bacteriana (mutaciones de la porina en OmpK35 y OmpK36).

4.2. Carbapenemasas

Las carbapenemasas son enzimas capaces de hidrolizar, en dependencia del tipo, a todos o casi todos los antibióticos β -lactámicos incluso a los carbapenémicos. La presencia de otros mecanismos de resistencia concomitantes en los EPC es frecuente, lo que origina cepas XDR e incluso PDR a los antibióticos. Los genes que codifican las carbapenemasas con mayor relevancia clínica y epidemiológica tienen en su mayoría localización plasmídica, por lo que se transfieren y expresan con facilidad en diversas especies de bacilos gramnegativos, y más frecuentemente entre especies de enterobacterias.

Tipos y clasificación de carbapenemasas

En la actualidad, se describen clasificaciones como la de Ambler o la de Bush-Jacoby-Medeiros ^[35] (Tabla I. 3).

Tabla I. 3. Clasificación de Ambler y clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros

AMBLER	BUSH-JACOBY-MEDEIROS	Derivados	Bacterias comunes
A	2f	KPC, NMC, SME, GES, IMI,	<i>Enterobacterales</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., raramente en <i>P. aeruginosa</i>
B	3a	IMP, VIM, GIM, SPM, SIM, NDM	<i>Acinetobacter</i> spp., <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterobacterales</i>
	3b	CAU, GOB, FEZ	
D	2df	OXA-23, 24/40, 48, 163	<i>Acinetobacter</i> spp., OXA-48 se detectaron en <i>Enterobacterales</i>

Características fenotípicas de las carbapenemasas

El grupo más importante de carbapenemasas lo constituyen las metalo- β -lactamasas pertenecientes a la clase B o grupo 3 de Bush y Jacoby. Las enzimas principales son la NDM, IMP y VIM que tienen un perfil hidrolítico que incluye todos los antibióticos β -lactámicos con la excepción del aztreonam y no se inhiben por el ácido clavulánico, el sulbactam o el tazobactam. Sin embargo, se inhiben por agentes quelantes de cationes divalentes como el ácido etilendiaminotetracético (EDTA), los compuestos tiólicos como el ácido 2-mercaptopropiónico, o el ácido dipicolínico (DPA) ^[36]. Con características similares se describe enzimas de los grupos SPM, GIM, SIM, AIM, DIM y KHM. En el presente, la enzima NDM-1 crea una alarma importante mediática debido al perfil mutirresistente o panresistente de los aislados que la producen^[37, 38].

Otro grupo importante de carbapenemasas son las de clase A (grupo 2f). Estas enzimas, cuyo primer representante es la β -lactamasa SME, confieren un fenotipo

con pérdida marcada de sensibilidad a los carbapenémicos y un perfil hidrolítico que incluye el aztreonam y en menor medida a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. No se inhibe por el EDTA, pero como peculiaridad destaca la inhibición parcial por ácido clavulánico (mejor con tazobactam). Otras enzimas relacionadas son las de los grupos IMI (IMI-1 y -2) y NMC-A. No obstante, dentro de las carbapenemasas de clase A, la que tiene mayor importancia epidemiológica son las denominadas KPC [39]. Desde el punto de vista fenotípico, las enzimas KPC hidrolizan de forma eficiente penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. Como excepción tendrían una menor tasa de hidrólisis de las cefamicinas aunque los valores de CIM que se obtienen suelen estar por encima del punto de corte de sensibilidad. No se inhiben por el ácido clavulánico, pero sí por el ácido fenil borónico (PBA), inhibidor que se utiliza para su reconocimiento fenotípico [40]. No obstante, la inhibición por el ácido borónico no es exclusiva de las enzimas KPC ya que también es un inhibidor eficiente de las β -lactamasas de tipo AmpC [41].

Las enzimas Clase D son oxacilinasas, también conocidas como OXA (Tabla II.3). Se asocia, de manera frecuente, con la producción de BLEE (en particular con la enzima CTX-M-15) lo que aumenta su resistencia a los carbapenémicos. Su rápida diseminación se asocia a la difusión de plásmidos [42]. La peculiaridad de esta clase de enzima radica en su capacidad de hidrolizar, de forma débil, a los carbapenémicos y no hidrolizar cefalosporinas de amplio espectro ni aztreonam (a excepción de OXA 27). Su actividad es poco inhibida por EDTA o ácido clavulánico (menos OXA 23 que es resistente), por lo tanto, su reconocimiento y detección representan un desafío. Se identificaron en varias especies de *Enterobacterales*, pero se aíslan con más frecuencia en *K. pneumoniae*, *E. coli* y *A. baumannii*. Su nivel de resistencia a los carbapenémicos aumenta cuando se asocian a alteraciones en la permeabilidad de la membrana y la producción de β -lactamasas [43].

La detección fenotípica de OXA-48 es compleja ya que la hidrólisis de los carbapenémicos es poco eficiente e inexistente para las cefalosporinas de tercera y cuarta generación [43]. El perfil de sensibilidad que confieren, mantiene las características generales de las OXA al ser poco inhibida por el ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam [36]. Por ello, en un antibiograma habitual de *K.*

pneumoniae o *E. coli*, enterobacterias que portan, en su mayoría la OXA-48, se muestran resistentes a las penicilinas y sus asociaciones con los inhibidores de β -lactamasas de clase A, sensibles a las cefalosporinas y con pérdida de sensibilidad a los carbapenémicos^[37, 43].

4.3. Métodos de diagnóstico de carbapenemasas en los laboratorios de microbiología

El diagnóstico de carbapenemasas constituye un desafío en la actualidad por el fenómeno de heterorresistencia y la expresión variable de las enzimas. Por otro lado, los métodos automatizados poseen baja sensibilidad y especificidad y el método de referencia, la Reacción en Cadena de la Polimerasa (*PCR*, por sus siglas de inglés) resulta muy costoso para su factibilidad en una red de laboratorios de microbiología ^[36]. A continuación se describen diferentes métodos para la detección de carbapenemasas.

Test de Hodge modificado

Se basa en la capacidad de la enzima carbapenemasa para reducir el halo de inhibición de ertapenem o imipenem, y tienen como modelo una *E. coli* multisensible. Entre sus ventajas destacan que es un método económico, de fácil realización y tiene un buen desempeño frente a carbapenemasas de tipo KPC. Entre sus desventajas se puede evidenciar que tiene un mal desempeño frente a metalo β -lactamasas, la interpretación es subjetiva (importancia de incluir controles) y el tiempo de incubación es de 18 a 24 horas luego de su realización para el informe de resultados ^[44].

Carba NP

Se basa en una reacción bioquímica según la hidrólisis del imipenem mediante la utilización de un indicador (rojo fenol), este método requiere colonias aisladas y puras, la interpretación es rápida a los 30 minutos luego de su realización y posee una buena sensibilidad y especificidad ^[45].

Prueba de sinergia de discos

Se basa en la utilización de inhibidores específicos de carbapenemasas como el PBA para KPC o EDTA para metalo β -lactamasas, ante una prueba positiva se sospecha la presencia de estos tipos de enzimas. Dicha prueba requiere de la realización de un antibiograma convencional, y la colocación estratégica de los discos a una distancia comprendida entre 15 y 20 mm entre el antibiótico carbapenémico y el disco con el inhibidor, la positividad de la prueba se evidencia por una deformidad en los halos de inhibición en forma de huevo ^[44].

En la tabla I.4 se muestran inhibidores específicos según tipo de carbapenemasas ^[41]:

Tabla I. 4. Inhibidores específicos para los diferentes tipos de carbapenemasas.

Enzima	DPA o EDTA	PBA	DPA+PBA	CLOXA	Resistencia a Temocilina
MBL (VIM, IMP, NDM)	+	-	-	-	V
KPC	-	+	-	-	V
MBL+KPC	V	V	+	-	V
OXA-48-like	-	-	-	-	+

Leyenda: ácido dipicolínico (DPA), ácido fenil borónico (PBA), cloxacilina (CLOXA), ácido etilendiaminoetracético (EDTA), Varia (V).

Inmunocromatografía

Este método se basa en una tecnología de membranas nitrocelulosa con nanopartículas coloidales de oro, las cuales se sensibilizan mediante un anticuerpo monoclonal dirigido contra un epítipo específico de algunos tipos de carbapenemasas. La prueba comercial disponible, en la actualidad, es la de la compañía CORIS, BioConcept, Bélgica como el Resist 4 O.K.N.V que permite la detección de las carbapenemasas tipo OXA-48, KPC y NDM y VIM y el más reciente Resist 5 O.O.K.N.V que incluye además la tipo OXA-163 ^[46].

Espectrometría de masas MALDI-TOF

Este sistema proporciona, mediante un análisis de proteínas, la identificación de bacterias, levaduras y hongos filamentosos en minutos. En cuanto al antibiograma, el sistema MALDI-TOF predice en menos de tres horas si las bacterias producen enzimas que hidrolizan los antibióticos, como por ejemplo carbapenemasas y BLEE. Para ello, los microorganismos se incuban durante un tiempo con el antibiótico. Se realiza una centrifugación y el sobrenadante obtenido se analiza mediante MALDI-TOF. Si el microorganismo posee la enzima que degrada el antibiótico, se observa la desaparición del pico correspondiente al antibiótico y la aparición de nuevos picos que corresponden a los metabolitos resultantes de la rotura este. En caso de que la bacteria no hidrolice el antibiótico sólo se observa el pico correspondiente al dicho antibiótico ^[47].

4.4. Métodos moleculares para la identificación bacteriana y la detección de genotipos de resistencia

Las técnicas moleculares permiten la detección de material genético, tanto ácido desoxirribonucleico (ADN), como ácido ribonucleico (ARN). Entre las técnicas moleculares, la PCR es la que adquiere un mayor valor diagnóstico ya que permite una identificación certera del agente infeccioso, además de ser el método de referencia para caracterizar sus genotipos de resistencia, existen técnicas de PCR de detección de un único gen o de múltiples genes de las carbapenemasas más prevalentes (VIM, IMP, NDM, KPC y OXA).

Existen varios estuches comerciales para la realización de PCR en tiempo real que, permiten obtener la identificación de varios agentes patógenos y de los genes que confieren resistencia a antibióticos directamente a partir de diferentes muestras, lo cual representa una gran ventaja frente a otros métodos. Se puede citar el sistema Verigene (Nanosphere) que se aplica a partir de frascos de hemocultivo crecidos. El sistema FilmArray Blood Culture Identificación Panel (BioFire Diagnostics) que también, se aplica a partir del frasco de hemocultivo crecido ^[47].

Otros métodos moleculares son los microarrays. Estos son métodos más versátiles que se pueden implantar en la rutina para detectar todas las clases de carbapenemasas con una alta sensibilidad y especificidad.

5. Epidemiología de las carbapenemasas a nivel global

La diseminación de EPC ocurre de forma alarmante entre países y continentes por lo que representa uno de los problemas de salud más graves en la actualidad. En algunas áreas excede la capacidad de manejo de los sistemas sanitarios y alcanza proporciones epidémicas, sin embargo, no se comporta de igual manera para todas las enzimas [48].

Carbapenemasas clase A

Las carbapenemasas tienen distribución mundial, el primer reporte es en Carolina del Norte en 1996, con la emergencia de la KPC debido a que se detecta en una cepa de *K. pneumoniae*, codificada por el gen *bla_{KPC}*. La variante KPC-2 se extiende a lo largo de la costa este de EEUU y en el 2004, fue detectada en Nueva York. Al mismo tiempo surge una variante de KPC-2, la KPC-3, causante de brotes en Nueva York entre 2000 y 2001 [35]. En el 2005, en Francia se detecta una cepa de *K. pneumoniae* productora de KPC-2 aislada de un paciente que viaja a Nueva York [49]. Con el tiempo se notifican aislados de *K. pneumoniae* productora de KPC en diversos países como Grecia, Israel, China así como en varios países de América Latina [50-52].

Las enzimas KPC se detectan en un gran número de secuencias tipo (ST) de *K. pneumoniae*. Sin embargo, la mayoría de los aislados con estas enzimas pertenecen a la ST258. Esta ST258 difiere tan solo en una única mutación en un locus de ST11 y está muy asociado con la producción de KPC y con aislados multirresistentes [53].

Carbapenemasas clase B

Al inicio las MBL se encuentran en *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. pero muy pronto se diseminan entre los *Enterobacterales* [54].

En el momento inicial de su descubrimiento, las MBL SPM (Brasil), GIM (Alemania) y SIM (Corea) no se dispersan por otros continentes, sin embargo, VIM e IMP se detectan en todo el mundo [55, 56].

Desde su primer aislamiento en Japón, *K. pneumoniae* productora de IMP es muy frecuente en este país [57], y en la actualidad se conocen 58 variantes las cuales se

encuentran diseminadas a nivel mundial. *K. pneumoniae* con IMP-4 es responsable de varios brotes en China y Australia^[58, 59]. También se detectan otras enterobacterias productoras de IMP como *S. marcescens* y *E. cloacae* en Japón y Corea del Sur^[57]. La diseminación de *Enterobacterales* productoras de IMP en el resto del mundo parece limitada, con pocos aislados identificados, no se reporta en América Latina hasta 2003 en Brazil, Argentina 2005, Costa Rica 2005, Puerto Rico 2006 y casos esporádicos en Perú, Colombia y Venezuela^[48].

La primera especie de *Enterobacterales* productora de VIM es, también, *K. pneumoniae* que se detecta, por primera vez, entre los años 2001-2003 en los países del sur de Europa y se introduce más tarde al norte de Europa y a EE.UU, a través de pacientes procedentes de áreas de prevalencia elevada^[60]. En estos países la prevalencia mantiene un nivel bajo, con algún brote esporádico limitado a un hospital. En América Latina se realizan las primeras descripciones en Chile, Argentina y Venezuela en 2002, Colombia 2004, Brazil 2005, Uruguay 2011 y Perú 2013^[61]. Los tipos de VIM que predominan en los *Enterobacterales* son VIM-1 y VIM-4^[62, 63].

En 2008, se caracteriza otra nueva MBL, la NDM-1, aislada en *K. pneumoniae* en la India. A partir de ese año, el subcontinente indio (La India, Pakistan y Bangladesh), se considera como una zona endémica de *K. pneumoniae* productora NDM y ocurre una diseminación posterior hacia diversos continentes como Las Américas con reportes en Estados Unidos, Canadá, Colombia, Perú, Guatemala y Cuba^[21, 64]. En el continente europeo se encuentra casos en España, Francia, Grecia, el Reino Unido y Suiza^[65]. En África se destaca Sudáfrica^[48], en Asia en países como Arabia Saudita, Omán, Emiratos Árabes Unidos, Japón, China y Corea del Sur ^[66, 67].

En relación a las variantes de NDM, la tipo NDM-1 es la de mayor incidencia lo que demuestra su diseminación rápida debido a su origen plasmídico ^[68], cuyos genes codificantes, también se acompañan de otros genes de resistencia para macrólidos, aminoglucósidos, rifampicina, sulfametoxazol y aztreonam. Además, algunos aislados se acompañan de resistencia a la colistina y a la tigeciclina las que se consideran cepas panresistentes ^[69].

Carbapenemasas clase D

Las β -lactamasas de clase D, se denominan, también, oxacilinasas debido a su capacidad y afinidad para hidrolizar isoxazolilpenicilinas (oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina) mucho más rápido que las bencilpenicilinas. En la actualidad, hay más de 400 variantes de β -lactamasas clase D, que se reclasifican en 12 subgrupos (OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-58, OXA-134, OXA-143, OXA-163, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229, y OXA-235)^[70, 71]. De estos, solo algunos subgrupos se reportan en enterobacterias, la β lactamasa de mayor prevalencia es OXA-48 que se identifica por vez primera en 2003 en Turquía, y desde entonces se han notificado 10 variantes de *bla*_{OXA-48}^[43].

Turquía es, en la actualidad, un país endémico de OXA-48 y desde el 2003 se informan casos esporádicos en Marruecos, Egipto y la India^[43]. En Europa también se reportan casos en Francia, España, Italia, Bélgica, Países Bajos, el Reino Unido, Alemania y Suiza^[72]. En América Latina son pocos los países que notifican aislados de este tipo, pero se reportan casos en Argentina y Perú^[73]. Cabe destacar que en países como España y Francia el tipo de carbapenemasas con mayor incidencia (78%) la OXA-48 ^[68].

6. Tratamiento de infecciones por *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos productores de carbapenemasas

En los últimos años se desarrollan muy pocos antimicrobianos para el tratamiento de infecciones por bacilos gramnegativos lo que limita las opciones terapéuticas^[33]. El principal problema, radica en la diseminación incontrolada de genes que codifican la resistencia a los carbapenémicos, una de las escasas opciones terapéuticas frente a bacilos gramnegativos multirresistentes, sobretudo en enterobacterias productoras de BLEEs y bacilos no fermentadores resistentes a penicilinas y cefalosporinas. ^[37].

Las opciones terapéuticas para EPC, son muy limitadas y no siempre eficaces, ya que solo demuestran sensibilidad *in vitro* a antibióticos como las polimixinas, la tigeciclina, la fosfomicina, los aminoglucósidos o las fluoroquinolonas^[74].

La experiencia en el tratamiento antimicrobiano de las infecciones por EPC se basa en un número limitado de estudios, con un bajo o medio grado de evidencia, y por lo tanto, el tratamiento óptimo no está bien establecido. Cabe destacar la importancia de la utilización de terapia combinada, así se obtiene una menor tasa de fracaso terapéutico que en monoterapia^[75]. Las combinaciones de antibióticos más eficaces son aquellas que incluyen un antibiótico carbapenémico en combinación con una de las drogas mencionadas, además, es muy importante conocer la concentración inhibitoria mínima (CIM) del carbapenémico ya que si la CIM es ≤ 8 ug/ml, aun son una opción terapéutica en dosis altas por infusión continua, junto con otra droga que haya demostrado su efectividad in vitro ^[76].

Conocer si un aislado clínico de ERC es productor de carbapenemasas así como el tipo de esta es importante para orientar las decisiones de tratamiento ^[74]. Existen nuevos antibióticos aprobados por la FDA en años recientes como: ceftolozano-tazobactam (2014), este es una buena opción terapéutica en bacterias resistentes a carbapenémicos pero no productoras de carbapenemasas, especialmente activo frente a *Pseudomonas* spp. multirresistente. Sin embargo, por otra parte la ceftazidima-avibactam (2015) y meropenem-vaborbactam (2017) muestran muy buena efectividad frente a infecciones de EPC, además, estos dos últimos antimicrobianos son activos contra carbapenemasas de tipo KPC u OXA-48, pero no frente a MBLs ^[77-79].

Para las *Enterobacterales* productoras del MBLs, en particular las que coproducen β -lactamasas de tipo serina, las opciones de tratamiento todavía son limitadas. Los datos clínicos preclínicos y anecdóticos apoyan el uso de aztreonam en combinación con avibactam (aztreonam más ceftazidima-avibactam o una nueva combinación de medicamento aztreonam-avibactam) contra estos patógenos, porque aztreonam es un monobactam estable a la hidrólisis por las MBLs y avibactam es un inhibidor de la β -lactamasa y presenta una excelente actividad frente a las carbapenemasas de serina, pero no se exploran otras combinaciones basadas en aztreonam ^[80].

Los antibióticos para tratamientos de las infecciones por ERC se resumen en la Tabla I. 5. Hay varios antibióticos "tradicionales" que conservan actividad contra

algunas cepas de ERC y están de nuevas formas o en combinación con otros fármacos para el tratamiento de las infecciones graves por ERC [69].

Tabla I. 5. Opciones de tratamiento antibiótico disponibles para *Enterobacterales* resistentes a los carbapenémicos.

Agente	Actividad contra Clase A	Actividad contra Clase B	Actividad contra Clase D	Observaciones
Aztreonam	-	+	+	No se recomienda. ERC suele tener BLEEs concurrentes.
Colistina o Polimixin B	+/-	+/-	+/-	Eficacia limitada, toxicidad significativa
Fosfomicina	+	+	+	Se utiliza, principalmente, para las infecciones del tracto urinario
Tigeciclina	+/-	+/-	+/-	Se utiliza como terapia combinada
Ceftazidima-avibactam	+	-	+	Aprobado para ITU complicada, infección intra-abdominal (con metronidazol), neumonía adquirida en el hospital y neumonía asociada a ventilación mecánica (NAH/NAV). Puede utilizarse con aztreonam para el tratamiento de infecciones que productor de NDM
Meropenem-Vaborbactam	+	-	-	Aprobado para ITU complicada, infección intra-abdominal, NAH/NAV
Imipenem-relebactam	+	-	-	Aprobado para ITU complicada, infección intra-abdominal por FDA ; aprobado para NAH/NAV, IHQ por EMA

Plazomicin	+	+	+	Aprobado para ITU complicada por FDA
Eravaciclina	+	+	+	Aprobado para infección intra-abdominal por FDA y EMA
Cefiderocol	+	+	+	Aprobado para ITU complicada, NAH/NAV por FDA
Zidebactam	+	+/-	+	Combinado con cefepima. Ensayos clínicos pendiente
Tanibobactam	+	+	+	Combinado con cefepima. Ensayos clínicos pendiente
Nacubactam	+	+/-	+	Combinado con meropenam. Ensayos clínicos pendiente

Leyenda: ITU, infección de tracto urinario; NAH/NAV, neumonía adquirida en el hospital / neumonía asociada a ventilación mecánica; IHQ, infección de herida quirúrgica; FDA, Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos; EMA, Agencia Europea de Medicamentos.

7. Prevención y control de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos productores de carbapenemasas

Medidas preventivas fundamentales para los pacientes infectados y colonizados por ERC

La aparición de bacterias que albergan estos genes muestra la capacidad de estos microorganismos para evolucionar de forma rápida, adquirir plásmidos portadores de múltiples genes de resistencia, persistir en el entorno hospitalario y propagarse con éxito^[22]. Por lo tanto, se indican medidas estrictas administrativas y técnicas de prevención y control de las infecciones en el medio hospitalario para los pacientes colonizados o infectados por patógenos portadores de carbapenemasas.

Como se indica en el manual de la OMS de 2019 para prevenir y controlar la propagación de organismos resistentes a los carbapenémicos, es fundamental establecer estrategias multimodales que incluyan los siguientes ^[22]:

1. Higiene de las manos;
2. Vigilancia de las infecciones y de las colonizaciones (en particular de las EPC);
3. Precauciones de contacto;
4. Aislamiento de los pacientes (en habitación individual o cohorte);
5. Limpieza ambiental.

Vigilancia activa

La realización de cultivos de vigilancia (muestras tomadas por hisopados rectales o perianales) para detectar colonización de EPC, se deben guiar por la epidemiología local y la evaluación del riesgo. Las poblaciones que deben considerarse para dicha vigilancia de pacientes colonizados incluyen ^[10]:

1. Pacientes con colonización/infección previa por EPC;
2. Contactos de pacientes colonizados o infectados por la EPC;
3. Pacientes con antecedentes de hospitalización reciente en instituciones endémicas de EPC.

No se conoce la frecuencia óptima del cribado activo de los ERC. Se recomienda que, en el caso de los pacientes de alto riesgo, se realice un cribado activo de los ERC en el momento del ingreso y una vez a la semana después de este. Un período de cribado de 4 semanas durante la hospitalización es un periodo de tiempo razonable y económico ^[10].

Estos cultivos de vigilancia tienen el propósito de prevenir la propagación/diseminación de las EPC, mientras, se requiere implementar las medidas de precaución por contacto hasta tener el resultado de los cultivos.

Estudios de epidemiología molecular

Un incremento del número de infecciones o colonizaciones causadas por un patógeno particular en un lugar dado, requiere determinar la posible relación

genética de los microorganismos aislados en dicho momento en busca de la fuente de infección, para así poder delimitar el patrón de transmisión de una o más cepas bacterianas. De esta manera, los estudios epidemiológicos de este tipo se enfocan en identificar el posible origen común de infección, estudiando posibles fuentes y vehículos de transmisión, además de monitorear los reservorios de dichos microorganismos. Es necesario contar con métodos altamente confiables, que permitan tipificar y discernir entre aislados y poder señalar la fuente y la vía responsable de la infección de estudio, al analizar la relación clonal entre ellos. La tipificación de distintos aislados se basa en el hecho que, si estas forman parte del mismo brote están, de forma clonal, relacionadas, y los resultados permite inferir acerca de las vías de diseminación de los patógenos nosocomiales, lo que contribuye de esta forma a sustentar las medidas preventivas y de control, que permitan una disminución de las infecciones y, en consecuencia, una disminución en el período de hospitalización de los pacientes, lo cual incluye una disminución de los costos y una mejora de la calidad de vida de los pacientes ingresados en este centro hospitalario ^[81].

Existen distintas técnicas para determinar relaciones entre aislados microbiológicos para poder determinar si se trata de un brote epidémico, y en su caso identificar la fuente y las posibles vías de transmisión del patógeno. Las técnicas de referencia en el laboratorio de microbiología clínica son el estudio de restricción del ADN cromosómico mediante electroforesis de campos pulsados (*PFGE*, por sus siglas en inglés), la tipificación por secuencias multilocus (*MLST*, por sus siglas en inglés), o los métodos de huella dactilar mediante PCR (*RAPD-PCR*, *REP-PCR* o *ERIC-PCR*) y con la llegada de la secuenciación de nueva generación, el análisis de genomas completos (*WGS*, por sus siglas en inglés)^[81].

La electroforesis en campo pulsado (ECP) es la técnica de referencia de tipificación debido a que tiene un poder elevado de discriminación. Sin embargo entre las limitaciones más importantes de la técnica se citan el elevado coste del equipo, su laboriosidad y el tiempo necesario para analizar los pulsotipos. Aunque hay numerosas técnicas de tipificación basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la más utilizada es la PCR de secuencias de ADN repetidas (*REP-PCR*). Estas técnicas son más económicas, menos laboriosas y suelen

generar patrones de bandas más fáciles de interpretar que la ECP como la ERIC-PCR. El poder de discriminación de las técnicas de PCR puede ser inferior o similar al de la ECP. Para el estudio de brotes pequeños y de corta evolución, en los que interesa obtener una información con rapidez, es preferible utilizar una técnica de tipado de PCR. En brotes más complejos y de mayor duración, en los que interesa conocer además la evolución o dinámica de los clones con el tiempo, es más rentable utilizar la ECP ^[81].

Técnica de tipado molecular ERIC-PCR

La REP-PCR (variante ERIC-PCR) es una técnica de tipificación en la que se utilizan cebadores que hibridan con secuencias de ADN repetidas o repetitivas (secuencias rep) que se distribuyen en el cromosoma de muchas enterobacterias y algunas bacterias grampositivas y hongos. Las secuencias consenso repetitivas intragénicas de enterobacterias (secuencias ERIC) son algunas de las secuencias rep que más se utilizan en estudios epidemiológicos de brotes infecciosos. Los patrones de ADN que se obtienen con la ERIC-PCR suelen ser menos complejos que los generados mediante REP-PCR ^[82].

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Diseño general del estudio

La presente investigación es un estudio observacional que contempla tres estudios anidados sobre EPC procedentes del hospital de nivel terciario "Hermanos Ameijeiras" durante el período 2017-2022 (Figura II.1).

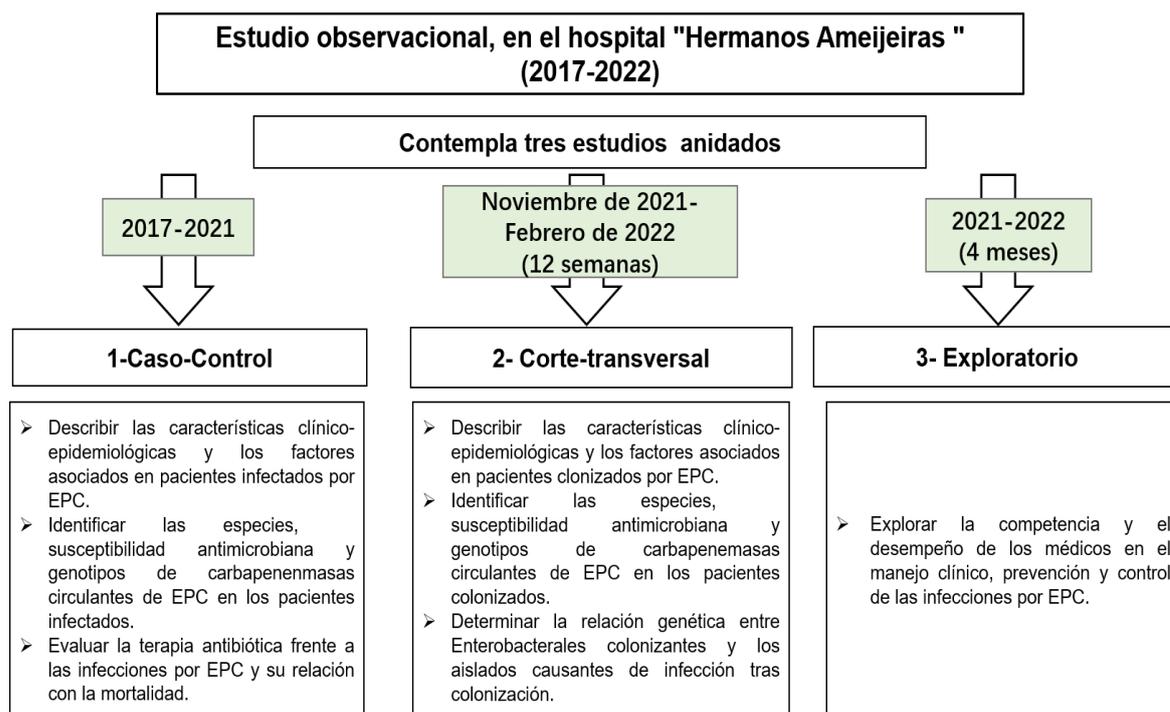


Figura II.1. Flujograma para el diseño general de la investigación

Descripción del sitio de estudio

El Hospital "Hermanos Ameijeiras" es un hospital de nivel de atención terciario con 650 camas para brindar servicios de asistencia médica en hospitalización y atención ambulatoria a pacientes nacionales y extranjeros, en especialidades clínicas, quirúrgicas y de los medios diagnósticos. Es el Centro de Referencia Nacional para la atención a la puérpera grave, trasplante, epidemiología hospitalaria, litotricia y nuevas tecnologías médicas.

Tabla II. 1. Definición y operacionalización de variables

Variable	Tipo	Operacionalización		Indicador
		Categoría	Descripción	
<i>Enterobacterales</i>	Cualitativa nominal politómica	<i>K. pneumoniae, K. oxytoca, K. ornithnolytica, K. aerogenes, E. coli, C. freundii, C. koseri, E. cloacae, M. morgani, S. marcesces, Providencia, Salmonella spp, Shigella spp, Yersinia spp.</i>	Según los resultados de las pruebas de identificación	Frecuencias absolutas y relativas
Tipos de antibióticos	Cualitativa nominal politómica	Ampicilina/sulbactam; piperacilina /tazobactam; Aztreonam; cefotaxima; ceftazidima; meropenem imipenam; gentamicina; amikacina; ciprofloxacina; fosfomicina; trimetoprim/sulfametoxazol; colistina; tigeciclina	Según protocolo establecido para cada entidad clínica	Frecuencia relativa
Categorías clínicas de pruebas de susceptibilidad	Cualitativa ordinal	Sensible (S); Intermedia (I); Resistente (R)	Según la respuesta in vitro del microorganismo a uno o varios antimicrobianos como factor predictivo de eficacia clínica	Frecuencia absolutas y relativas

<p>Categorización de la resistencia en multidrogorresistente (MDR); Extremadrogorresistente (XDR) Pandrogorresistente (PDR)</p>	<p>Cualitativa nominal politómica</p>	<p>MDR: resistente al menos a un antimicrobiano de tres o más categorías farmacológicas XDR: resistente a todos los grupos de antibióticos excepto a uno o dos de ellos PDR: resistente a todos los fármacos de todas las categorías</p>	<p>Resistencia mostrada a las diferentes categorías de antibióticos según Consenso Latinoamericano para definición de las categorías MDR; XDR; y PDR en bacilos gram negativos ReLAVRA 2019</p>	<p>Frecuencia relativa</p>
<p>Tipo de carbapenemasa</p>	<p>Cualitativa nominal politómica</p>	<p>KPC; OXA-48; NDM; VIM; IMP;</p>	<p>Las carbapenemasas son enzimas capaces de hidrolizar; dependiendo del tipo a todos o casi todos los antibióticos β-lactámicos incluso a los carbapenémicos</p>	<p>Frecuencias absolutas y relativas</p>
<p>Pacientes</p>	<p>Cualitativa nominal dicotómica</p>	<p>Enfermos: pacientes infectados por microorganismos con síntomas o signos clínicos de infección. Portadores: sin presentar signos clínicos de la enfermedad, alberga agentes patógenos de diversas enfermedades infecciosas, constituyendo una fuente potencial de contagio para otros y jugando un</p>	<p>Estado de salud del paciente acorde al resultado de microbiología</p>	<p>Frecuencias absolutas y relativas</p>

		importante papel en la epidemiología de la enfermedad		
Servicio médico	Cualitativa nominal politómica	Cirugía General; Trasplante; Unidad de Cuidados Intensivos (UCI); Urología-Litotricia; Hematología UCI cardiovascular-quirúrgico; Neurología; Angiología; Geriatria; Gastroenterología; Medicina interna; Nefrología; Ortopedia; Reumatología	Prestación médica del hospital que brinda asistencia sanitaria especializada	Frecuencias absolutas y relativas
Diagnóstico clínico	Cualitativa nominal politómica	Bacteriemia; Neumonía; Infección urinaria; Infección intracraneal; Infección de herida quirúrgica; Infección intra-abdominal	Según la impresión del diagnóstico clínico del paciente	Frecuencias absolutas y relativas
Factores de riesgos	Cualitativa nominal politómica	Ingreso previo seis meses; Derivación Prolongada; Acceso Vascular profundo; Sonda vesical; Sonda Nasogástrica; Ventilación Mecánica; Cirugía; Diálisis; Traslado de otro centro sanitario; Uso de esteroides; Uso previo de dos o más antibióticos; Agentes β -lactámicos combinados; Cefalosporinas (1ra a 4ta	Condición presente en el paciente que se asocia con una probabilidad incrementada de desarrollar una infección por Enterobacteria productora de carbapenamasa	Frecuencias absolutas y relativas

		generación); Aminoglucósido; Fluoroquinolonas; Carbapenémicos; Sulfonamidas		
	Cuantitativas continuas	Índice de Charlson; días de hospitalización antes de la infección		Media ± DE
Opción de tratamiento antibiótico	Cualitativa nominal politómica	Monoterapia; Terapia combinada (Combinación basada en colistina; Combinación basada en tigeciclina; Combinación basada en colistina- tigeciclina)	Según protocolo establecido para cada entidad clínica	Frecuencias absolutas y relativas
Desenlace clínico	Cualitativa nominal dicotómica	Sobreviviente Fallecido	Evolución clínica de paciente	Frecuencias absolutas y relativas
Cargo ocupacional	Cualitativa nominal dicotómica	Especialista Médico residente de especialidad	Encuestado	Frecuencias absolutas y relativas

2. Diseño específico de los diferentes estudios

2.1. Estudio 1 (Estudio de caso-control)

Caracterización microbiológica de EPC causantes de infecciones

Se recolectaron 124 aislados de EPC causantes de infecciones en 95 pacientes ingresados en el hospital "Hermanos Ameijeiras" durante el período del 2 de enero de 2017 y el 31 de diciembre de 2021, que se enviaron al Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria (LNR-IAAS) del IPK, como parte de la vigilancia nacional de carbapenemasas. Los aislados clínicos procedente de las siguientes muestras biológicas: urocultivo; hemocultivos y punta de catéter; herida quirúrgica; secreción endotraqueal; líquido peritoneal; líquido cefalorraquídeo. Se identificaron las especies, se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana y se determinaron los genotipos de carbapenemasas (Ver acápite II.3.1-3.5).

A partir de la población anterior, se realizó un estudio retrospectivo, casos-controles para los pacientes infectados por EPC, donde se implementó un método analítico para explorar las características clínicas-epidemiológicas de la infección y evaluar las opciones de tratamiento para el control de la infección.

Caracterización clínica-epidemiológica de las infecciones por EPC

Determinación de las poblaciones: Se determinó el grupo de casos mediante la revisión de las historias clínicas de cada paciente según los criterios de inclusión y exclusión. Se seleccionó de forma consecutiva un grupo de control de pacientes infectados con *Enterobacterales* susceptibles a carbapenémicos (ESC) en una proporción de 1:1 emparejados por edad, período de hospitalización, distribución de servicios y sitios de infección. El diagnóstico de las infecciones se basó en los criterios de diagnóstico de la infección nosocomial publicados por el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) [83].

Criterios de inclusión:

- Pacientes hospitalizados de donde se aislaron EPC por el laboratorio de microbiología desde 2017 a 2021.

- Paciente con la infección primaria o primer episodio de infección adquirida por EPC durante la hospitalización.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con infecciones por EPC en la comunidad (diagnóstico de infección <48h de admisión en el hospital, sin contacto con la atención sanitaria hasta 90 día previos).
- Pacientes con cultivo positivo de EPC por colonización o muestra contaminada.

Recogida de los datos. Se consignaron los datos mediante un modelo de recolección (Anexo I), como datos clínicos generales: edad, servicios de hospitalización, comorbilidades (según el índice de chalson), tipos de infección, fecha de ingreso y egreso, fecha de infección; Los factores de riesgos se presentaron antes de diagnosticar la infección (derivación prolongada, acceso vascular profunda, sonda vesical o nefrostomía, sonda nasogástrica, ventilación mecánica, operación quirúrgica, diálisis, hospitalización en seis meses previos, traslado de otros centros sanitarios, uso previo de esteroides, antibioterapia previa); tratamiento antibiótico posterior a la infección y desenlace clínico.

Procedimientos estadísticos. Los datos métricos se describieron mediante media \pm DE y la frecuencia absoluta o relativa para los datos no métricos. La comparación entre grupos para las variables métricas se realizó mediante la prueba t de Student, mientras que para las variables no métricas se utilizó la prueba de chi-cuadrado o la prueba de probabilidad exacta de Fisher como criterio para determinar la significación estadística de las diferencias ($p \leq 0,05$). Para la identificación de los factores de riesgo de infección por EPC, se aplicó un análisis de regresión logística binaria para la comparación multivariante. En el análisis multivariado: las variables con p -valor $\leq 0,15$ del análisis univariado se incluyeron en regresión logística multivariado para calcular odds ratio (OR) y el 95% intervalo de confianza. Para el análisis de la mortalidad se utilizaron la curva de supervivencia (Kaplan-Meier) y la regresión de Cox. La razón de prevalencia (RP) se utilizó en la evaluación de las opciones de tratamiento para las infecciones por EPC, sin embargo, se añadió 0,5 a todas las frecuencias cuando se disponía de cero. Los análisis se realizaron con SPSS 22.0 y EPIDAT 3.1.

2.2. Estudio 2 (Estudio corte-transversal)

Diseño de estudio. Se realizó un estudio de corte transversal mediante el cribado activo (hisopado rectal) a pacientes ingresados en el hospital "Hermanos Ameijeiras" durante 12 semanas (noviembre de 2021 hasta febrero de 2022), para estimar la prevalencia de colonización intestinal de EPC, analizar las características microbiológicas de los aislados, y explorar los factores para la adquisición de la colonización por EPC en pacientes y los factores asociados a una infección tras la colonización.

Determinación de las poblaciones. Se incluyeron todos los pacientes ingresados en los siguientes servicios: Unidad de Cuidados Intensivos, Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovascular, Urología/Litotricia, Cirugía General, Trasplante y Hematología que fueron los servicios de mayor prevalencia de infecciones por EPC en el hospital según la vigilancia microbiológica local desarrollada entre el período 2020-2021 la que se corroboró por la vigilancia nacional de carbapenemasas desarrollada desde el LNR-IAAS, IPK.

Cribado de los portadores fecales de EPC. Las muestras de hisopado rectal se tomaron en el momento de admisión o ≤ 48 h de ingreso de forma consecutiva por cada siete días para los pacientes hasta el alta hospitalaria o traslado de servicio con un máximo de muestreo de cuatro semanas.

Caracterización microbiológica de EPC recuperados de hisopados rectales

Los hisopados rectales se inocularon de forma inmediata en los medios selectivos cromogénicos mSuperCARBA™ (CHROMagar™, Japón), luego se incubaron a 37 ± 2 °C durante 48 horas con una primera lectura a las 24 horas.

La identificación bacteriana se realizó según las instrucciones del fabricante: colonias rosas oscuras o rojizas (*E. coli*); azul metálico (coliformes); colonias translúcidas, +/- pigmentación natural crema a verde (*Pseudomonas* spp.) y colonias crema (*Acinetobacter* spp.)

Si en el cultivo se recuperaron colonias que cumplieron con las características anteriores se informó como: bacteria identificada presuntivamente productora de carbapenemasa.

Si tras 48 horas de incubación no se recuperon colonias con las características antes descritas se informó como negativo

Seguimiento evolutivo de los pacientes portadores fecales de EPC: Se revisaron las historias clínicas de los pacientes colonizados, de forma sistemática, hasta 30 días de admisión o menos en caso de alta hospitalaria para detectar posible infección tras colonización. Cuando los pacientes presentaron los síntomas o signos de infección, se tomaron y cultivaron sus especímenes del sitio infectado para la correspondiente identificación del patógeno. Si la especie resultante coincidía con la especie colonizadora del tracto gastrointestinal, se incluyó para el estudio de evaluación de relación genética mediante ERIC-PCR (Ver acápite II. 3.6) para confirmar infección tras colonización.

Estudio microbiológico de EPC de portadores fecales. Todos los aislados compatibles presuntivamente con EPC recuperados del medio cromogénico mSuperCARBA™ se caracterizaron en el LNR-IAAS, IPK donde se llevó a cabo la identificación de especies, determinación de la susceptibilidad antimicrobiana, genotipos de carbapenemasas, así como la evaluación de la relación genética entre los aislados (Ver acápites II.3.1-3.6). El transporte de los aislados desde el Hospital "Hermanos Ameijeiras" hasta el IPK se realizó cumpliendo con las medidas de bioseguridad, con sistema básico de triple empaque recomendado por la OMS.

Recogida de los datos. Se recogieron datos de los pacientes mediante la revisión de sus historias clínicas mediante el modelo de recolección de datos (Anexo II). La fecha de diagnóstico de la colonización (cribado positivo del hisopado rectal) se tomó como punto de corte para investigar sobre los diferentes factores de riesgos tanto para la colonización (hospitalización en 12 meses previos o traslado de otros centros sanitarios y antibioterapia previa) como para la infección relacionada a esta (acceso vascular profundo, sonda vesical o nefrostomía, sonda nasogástrica, ventilación mecánica, operación quirúrgica).

Procedimientos estadísticos. Se usó la frecuencia absoluta y relativa para describir los datos no métricos. Para la comparación entre los grupos de las variables no métricas se utilizó la prueba de chi-cuadrado o la prueba de probabilidad exacta de Fisher como criterio para determinar la significación

estadística de las diferencias ($p \leq 0,05$). La razón de prevalencia (RP) se utilizó para la exploración de los factores de riesgo que están involucrados en la evolución de la colonización a la infección. Los análisis se realizaron con EPIDAT 3.1.

2.3. Estudio 3 (Estudio exploratorio)

Diseño de estudio. Se realizó un estudio de corte transversal para explorar el nivel del conocimiento y las habilidades de los médicos de asistencia en el hospital "Hermanos Ameijeiras" sobre el comportamiento clínico de las infecciones por EPC, su manejo terapéutico, su control y prevención, así como para identificar sus necesidades de aprendizaje. Este se realizó en forma de cuestionario durante cuatro meses que incluyeron la fase de diseño de este, la validación y la fase de encuesta a los médicos.

Determinación de las poblaciones. Se encuestaron un total de 70 médicos de 103 médicos activos entre residentes de especialidades médicas y especialistas procedentes de los servicios de mayor prevalencia de EPC del hospital "Hermanos Ameijeiras" antes citados (Ver acápite II.2.1) lo que representó el 68,0% de total de médicos de asistencia derivó de la disposición de estos para su contribución con el estudio respetando su voluntad.

Elaboración del cuestionario. Para explorar el nivel de conocimientos de los médicos sobre la infección por EPC y la necesidad de aprendizaje, se aplicó un cuestionario específico para el tema. En la elaboración de este participaron dos especialistas de Microbiología, dos de Epidemiología y una de Infectología. Los contenidos a explorar se seleccionaron teniendo en cuenta las directrices de la OMS para la Prevención y el Control de *Enterobacterales*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos en los centros sanitarios y los aspectos claves de los procedimientos para el manejo de los pacientes en la práctica clínica. El cuestionario incluyó cuatro secciones: (I) información sociodemográfica; (II) conocimientos sobre EPC (20 ítems): aspectos generales, epidemiología-transmisión, diagnóstico-tratamiento y prevención-control; (III) prácticas en el manejo clínico sobre EPC (seis ítems); y (IV) necesidades de aprendizaje (dos ítems). El nivel de dificultad de cada pregunta se

determinó mediante una discusión entre los expertos del grupo coordinador (Anexo IV).

Validación del cuestionario. Este se sometió al juicio de un panel de cinco expertos (dos microbiólogos y tres infectólogos) con más de 10 años de experiencia de trabajo y dominio de la temática. Se aplicó el método de agregados individuales en el cual los expertos, de forma individual, realizan la evaluación de cada aspecto en relación con la temática establecida. Para cada pregunta del cuestionario los expertos evaluaron dos aspectos: adecuación (comprensión de las preguntas por ser clara, precisa, no ambigua y estar acorde al nivel de información y el lenguaje del encuestado) y pertinencia de la pregunta para logro del objetivo de la investigación. Se empleó el coeficiente V de Aiken y su intervalo de confianza (IC) del 95% para evaluar el grado de acuerdo entre los expertos en relación con los aspectos evaluados (Anexo V). Las preguntas con una V de Aiken menor que 0.70, se analizaron y se reelaboraron de acuerdo a las recomendaciones de los expertos.

El cuestionario validado se aplicó a los médicos de asistencia del hospital "Hermanos Ameijeiras" una vez que dieron su consentimiento para participar en el estudio

Procesamiento de los datos. Los cuestionarios recogidos se revisaron de forma manual, todos los datos se comprobaron por dos miembros del grupo coordinador e introducidos en una base de datos. Con relación a la exploración del conocimiento (parte II), los médicos se evaluaron mediante 20 preguntas, donde cada respuesta correcta recibió una puntuación de "uno", mientras que la respuesta incorrecta se clasificó como "cero". Las puntuaciones totales se clasificaron en tres niveles como sigue: (1) nivel alto: 17-20 respuestas correctas; (2) nivel medio: 13-16 respuestas correctas; (3) nivel bajo: ≤ 12 respuestas correctas. Las respuestas que faltaron se consideraron como incorrectas.

Con respecto a la experiencia en el manejo clínico y necesidades de aprendizaje (parte III y IV) no se les asignó puntuación ordinal, sólo se cuantificó la frecuencia relativa de la respuesta.

Procedimientos estadísticos. Los datos recogidos se guardaron en una base de datos en fichero de Excel y se procesaron en el programa IBM SPSS Statistics 22. Los datos se describieron mediante la media \pm DE (variables cuantitativas) y frecuencias absolutas y relativas (variable cualitativa).

Se exploraron los factores asociados al nivel de conocimiento mediante una regresión logística ordinal. Los factores asociados al nivel de conocimientos con p -valor $\leq 0,15$ en el análisis univariado se incluyeron en un modelo multivariado, donde el p -valor $\leq 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

3. Procedimientos en el LNR-IAAS, IPK

3.1. Conservación de los aislados

Todos los aislados, objetos de estudio, se registraron en la base de datos del LNR-IAAS y se sembraron en agar McConkey (Biolife) con incubación a 37°C durante 18 a 24 horas para su conservación a -70°C (REVCO, EE. UU) en caldo triptona soya (CTS) (Biolife, Milan, Italia) con glicerol al 15% (Biolife, Milan, Italia) hasta su posterior caracterización microbiológica.

3.2. Identificación de especies de *Enterobacterales*

Se corroboró la identificación de especies de los aislados para lo cual el material biológico se transfirió del medio de conservación por estrías, a placas de Petri (100 x 13 mm) preparadas con agar McConkey (Biolife, Milan, Italia). Posteriormente se incubaron a 37°C (Incubadora Memmert, Alemania) durante 18 a 24 horas.

Una vez corroborada la pureza del cultivo se inició el método convencional mediante pruebas bioquímicas según el Manual de Operaciones de Procedimientos Diagnósticos (MOPD, Habana, Cuba) del LNR-IAAS. Se realizó la prueba de Kligler y de oxidasa en el inicio y luego se usaron los medios de cultivo siguientes para la identificación de especies: agar citrato de Simmons (Biolife, Milan, Italia), agar urea de Christensen (Biolife, Milan, Italia), agar movilidad-indol (Biolife, Milan, Italia), malonato de sodio (Biolife, Milan, Italia), caldo lisina descarboxilasa (Biolife, Milan, Italia) y caldo ornitina descarboxilasa (Biolife, Milan, Italia).

3.3. Confirmación de la resistencia a los carbapenémicos en aislados de *Enterobacteriales*, objetos de estudio

Se aplicó el método de difusión en agar o Bauer-Kirby por discos de imipenem 10 µg y meropenem 10 µg.

A partir de un cultivo puro de 18 a 24 horas de crecimiento en agar McConkey, se preparó un inóculo en 3 mL de solución salina estéril y se ajustó la suspensión bacteriana hasta alcanzar una densidad óptica correspondiente a la escala 0,5 de McFarland (10^8 - 10^9 UFC). Se sembraron las cepas en agar Müeller-Hinton. Después de cinco minutos, se colocaron los discos en la superficie del agar con pinzas estériles. Las placas se incubaron a 37°C en aerobiosis durante 18 a 24 horas. Al día siguiente se midieron los halos de inhibición alrededor de cada disco para obtener la categoría de sensible, resistente e intermedio. Para la interpretación se tuvo en cuenta los puntos de corte del Instituto de Estandarización de Laboratorio Clínico (*CLSI*, por sus siglas en inglés) de 2021.

3.4. Detección de la producción de carbapenemasas

a) Confirmación fenotípica de la producción de carbapenemasas

Se llevó a cabo mediante el método de discos combinados (Estuche comercial KPC+MBL Confirm ID Kit, Rosco Diagnóstica, Dinamarca).

- Se emplearon discos de meropenem (10µg) y meropenem en combinación con ácido dipicolínico (DPA), ácido borónico (BO) y cloxacilina (CX), incubaron a 37°C durante 18-24 horas. Se midieron los halos de inhibición del meropenem y meropenem en combinación con DPA, BO y CX.

Cepa control positivo: *K. pneumoniae* ATCC BAA - 1705 – MHT; Cepa control negativo: *K. pneumoniae* ATCC BAA - 1706 – MHT

Interpretación de los resultados:

- Producción de MBL: diferencia en los halos de inhibición ≥ 5 mm de meropenem-DAP respecto a meropenem.
- Producción de KPC: diferencia en los halos de inhibición ≥ 4 mm de meropenem-BO y ≥ 3 mm de meropenem-CX respecto a meropenem.

b) Identificación del tipo de carbapenemasa en *Enterobacterales* por el método de inmunocromatografía

Se empleó el estuche comercial Kit RESIST 4 O.K.N.V (CORIS, BioConcept, Bélgica) acorde a las instrucciones del fabricante.

Resultado negativo: aparece una línea de color rojo-púrpura sobre la ventana central de lectura en la posición de la línea de control (C). No se observan más bandas.

Resultado positivo: además de una banda de color rojo-púrpura en la línea de control (C), aparece una banda visible de color rojo-púrpura en una de las posiciones de la línea de la prueba (OXA-48, KPC, VIM o NDM).

Resultado inválido: La ausencia de una línea de control indica un error en el procedimiento de la prueba.

c) Identificación del tipo genético de carbapenemasa en *Enterobacterales* por la técnica de PCR

Se realizó en 55 aislados clínicos de *Enterobacterales*, identificados de forma presuntiva, como productores de carbapenemasa por el método fenotípico (*K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, una *K. aerogenes*, una *S. marcescens*, una *C. freundii*, una *C. koserii*) (Estudio 1) y en 58 aislados colonizantes intestinales presuntivamente productores de carbapenemasas por el método fenotípico (Estudio 2) (*K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *K. aerogenes*, *K. oxytoca*, *K. ornithinolytica*, *C. koseri*, *C. freundii*, *M. morgani*).

Extracción de ácido nucleico. La extracción del ADN se realizó mediante el método de lisis con el *buffer* Tritón (100 mM NaCl, 10 mM Tris HCl pH 8,3, 1 mM EDTA, 1% Tritón X100). Se recogieron con una asa de siembra 1 ó 2 colonias de cada aislado procedentes de un cultivo puro de 18-24 horas y se resuspendieron en 200 µl de este *buffer*. Los tubos se calentaron a 100 °C durante 10 minutos y después, se centrifugaron durante 10 minutos a 14.000 rpm. Los resuspendidos se conservaron a -20 °C hasta su uso.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en Inglés): se aplicó en todas las cepas con producción fenotípica de carbapenemasas para

determinar la presencia de los genes *s bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} y *bla*_{OXA-48}. Para ello se utilizaron los cebadores ^[84](Tabla II. 2).

Tabla II. 2. Secuencia de los cebadores utilizados en la PCR múltiple para determinar los tipos genéticos de carbapenemasas.

Primers	Secuencia (5'–3') c	Gen	Tamaño del producto amplificado (pb)
KPC-Fm	CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG	<i>bla</i> _{KPC}	798
KPC-Rm	CTTGTCATCCTTGTTAGGCG		
IMP-F	GGAATAGAGTGGCTTAAAYTCTC	<i>bla</i> _{IMP}	232
IMP-R	GGTTTAAAYAAAACAACCACC		
VIM-F	GATGGTGTGGTTCGCATA	<i>bla</i> _{VIM}	390
VIM-R	CGAATGCGCAGCACCAG		
NDM-F	GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	<i>bla</i> _{NDM}	621
NDM-R	CGGAATGGCTCATCACGATC		
OXA-F	GCGTGGTTAAGGATGAACAC	<i>bla</i> _{OXA-48}	438
OXA-R	CATCAAGTTCAACCCAACCG		

La preparación de la mezcla de reacción se realizó con un volumen final de 50 µL. Se utilizó 26µL de 2019-nCoV-PCR Mix y 4µL de 2019-nCov-PCR-Enzyme Mix que contuvieron dNTPs, MgCl₂, Rnasin, PCR buffe, RT Enzyme y Taq Enzyme, además se agregó 2,5µL de cada Primer(0,5µM/µL) y 10µL de ADN molde. Se realizó la PCR con la siguiente rampa de temperaturas (Tabla II. 3) describe los valores de temperaturas utilizados en dicha reacción con la finalidad de tipificar carbapenemasas.

Tabla II. 3. Rampa de temeperaturas empleadas para el proceso de amplificación por PCR para tipificación de carbapenemasas.

Paso	Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
Inicio (activación de la enzima)	94	10 min	
Desnaturalización	94	30 seg	X 40
Hibridación	57	30 seg	
Elongación	72	1 min	
Elongación final	72	10 min	

El producto de PCR se verificó en un gel de 1,5% agarosa (AppliChem, Darmstadt, Alemania) con tampón TE (Tris 100 mM, EDTA 10mM, pH 8.0) y su visualización se realizó utilizando bromuro de etidio 0,1% (v/v). El gel se corrió durante una hora a un voltaje constante de 100 V. El producto de PCR se limpió de impurezas mediante el empleo de un juego de reactivos para la purificación QIAquick (QIAGEN, Alemania). Las bandas se visualizaron con un transiluminador UV (Uvitec, Cambridge, Reino Unido).

3.5. Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad antimicrobiana de los aislados se determinó por el método convencional o automatizado según la factibilidad de recursos en el momento de caracterizar los aislados. Los resultados se interpretaron por las normas de *CLSI* (2021) y *EUCAST* (2022), los que se resumen en la tabla II. 4.

Se utilizaron las cepas controles: *E. coli* ATCC 25922 y *E. coli* NCTC 13846 (mcr-1 positiva).

Tabla II. 4. Puntos de corte para la categoría de susceptible, intermedio o resistente en los antibióticos estudiados.

Antimicrobianos	CIM (mg/l)			Diámetro de halo(mm)		
	S	I	R	S	I	R
Amoxicilina/clavulánico	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	≥18	14-17	≤13
Piperacilina/tazobactam	≤ 16/4	32/4- 64/4	≥ 128/4	≥21	18-20	≤17
Ceftazidima	≤ 4	8	≥ 16	≥21	18-20	≤17
Cefepime	≤ 2	-	≥ 16	≥25	-	≤18
Cefoxitina	≤ 8	16	≥ 32	≥18	15-17	≤ 14
Aztreonam	≤ 4	8	≥ 16	≥21	18-20	≤ 17
Imipenem	≤ 1	2	≥ 4	≥23	20-22	≤ 19
Meropenem	≤ 1	2	≥ 4	≥23	20-22	≤ 19
Ciprofloxacino	≤ 0.25	0.5	≥1	≥26	22-25	≤ 21
Gentamicina	≤ 4	8	≥ 16	≥15	13-14	≤ 12
Amikacina	≤ 16	32	≥64	≥17	15-16	≤ 14
trimethoprim- sulfamethoxazol	≤ 2/38		≥ 4/76	≥16	11-15	≤ 10
Fosfomicina	≤ 64	128	≥ 256	≥16	13-15	≤ 12
Tigeciclina	≤ 0.5	-	>0.5	-	-	-
Colistina	-	≤ 2	≥ 4	-	-	-

Nota: tigeciclina se interpreta utilizando la norma de EUCAST (2022), otros agentes antimicrobianos se interpretan por las normas CLSI (2021).

a) Determinación de la susceptibilidad in vitro a los antibióticos por el método convencional.

Se empleó el método de Epsilon-test (E-test) o difusión por disco (Kirby-Bauer) en agar Müeller Hinton (Biolife, Milan, Italia) para detectar la susceptibilidad de ampicilina-sulbactam, aztreonam, amikacina, ceftazidima, ceftriaxona, cefepime, imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam, gentamicina, ciprofloxacina, trimethoprim-sulfamethoxazol, fosfomicina y tigeciclina. La colistina se evaluó mediante el método de elución de discos [85].

b) Determinación de la susceptibilidad in vitro a los antibióticos por el método automatizado (Vitek® 2, bioMérieux).

Las suspensiones obtenidas mediante el protocolo idéntico al anterior, se cargaron en la tarjeta Vitek 2 AST-N245, según instrucciones del fabricante. Los antimicrobianos evaluados fueron ampicilina/sulbactam (SAM), aztreonam (ATM), ceftazidima (CAZ), ciprofloxacina (CIP), colistina (CS), doripenem (DOR), cefepime (FEP), fosfomicina (FOS), gentamicina (GM), imipenem (IPM), levofloxacina (LEV), meropenem (MEM), minociclina (MNO), piperaciclina (PIP), piperaciclina/tazobactam (TZP), tobramicina (TM), sulfametoxazol/trimetoprim (SXT).

Los aislados donde se determinó la susceptibilidad antimicrobiana por sistema Vitek, se evaluó la susceptibilidad a la amikacina y la tigeciclina mediante el método convencional.

3.6 Determinación de la relación genética entre aislados de *Enterobacterales* mediante ERIC-PCR y análisis bioinformático.

Se determinó la relación genética entre aislados de EPC colonizantes del tracto gastrointestinal de los pacientes ingresados objeto de estudio. Además, si un paciente tuvo una infección durante su ingreso por la misma especie colonizadora del tracto gastrointestinal se incluyó también en el estudio para evaluar clonalidad y confirmar infección tras colonización. De esta manera se caracterizaron: 21 aislados de *E. coli* (19 colonizadores y dos causantes de infecciones); 28 aislados de *K. pneumoniae* (24 colonizadores y cuatro causantes de infecciones); 11 aislados de *E. cloacae* (nueve colonizadores y dos causantes de infecciones).

Los patrones de clonalidad se obtuvieron mediante la técnica ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) y se emplearon los siguientes primers [86]:

- Forward ERIC 1 (5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCA-3')
- Reverse ERIC 2 (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGAGCG-3')

La extracción del ADN se realizó mediante el método de lisis con el *buffer* Tritón (100 mM NaCl, 10 mM Tris HCl pH 8,3, 1 mM EDTA, 1% Tritón X100). Se recogieron con un asa de siembra uno ó dos colonias de cada aislado procedentes de un cultivo puro de 18-24 horas y se resuspendieron en 200 µl de este buffer. Los tubos se calentaron a 100 °C durante 10 minutos y después, se centrifugaron durante 10 minutos a 14.000 rpm.

La preparación de la mezcla de reacción se realizó con un volumen final de 12,5 µL (5,12). Se utilizó Master Mix 2X Promega (1X) que contuvo Taq (0.625 U), dNTPs (200 µM) y MgCl₂ (1,5 mM), además se agregó Primer Forward y Reverse (1 µM/µL) y ADN, de forma adicional, se optimizó con MgCl₂ (1 mM) y Taq Polimerasa Gentaq (0,375 U). Las condiciones termodinámicas para ambas herramientas de tipificación constaron de un paso inicial de desnaturalización de 94 °C por 7 minutos, seguido por 45 ciclos de: desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, hibridación de 41.2 °C para ERIC y 40.3 °C para REP por 1 minuto y elongación a 72 °C por 5 minutos, además de un paso de elongación final a 72 °C por 7 minutos.

Los productos amplificados se separaron mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2 % y se usó un marcador de peso molecular de 100 pb. Las condiciones fueron: precorrida 70V por 10 minutos, corrida a 140V por 70 minutos y postcorrida 70V por 10 minutos, luego los geles se tiñeron durante 15 minutos en una solución que contenía bromuro de etidio (0.5 mg/mL).

El análisis de los patrones de bandas se realizó con el programa Gel J 1.0 (La Rioja, España). A partir de las bandas obtenidas se construyeron dendogramas mediante el método UPGMA y el coeficiente Dice, con una tolerancia del 5%. Se aplicó un valor de corte del 80% de similitud para definir los clusters, mientras, los

aislados estrechamente relacionados con igual o mayor que 90% de similitud, las cepas idénticas se definieron como aislados con mayor que 97% de similitud ^[87].

4. Consideraciones éticas

En las diferentes investigaciones se tuvo en cuenta las normas de Helsinki, con el cumplimiento de los principios de la no maleficencia, la justicia y respeto la autonomía del paciente con la aprobación por el Consejo Científico y el Comité de Ética del IPK. Los propósitos y procedimientos de las investigaciones del estudio 1 y 2 se sometieron a la consideración de la dirección del Hospital "Hermanos Ameijeiras". Se contó con la aprobación del comité de investigaciones y de ética de dicho hospital. Durante todo momento se guardó la confidencialidad acerca de la identidad y datos personales de los pacientes cuyas historias clínicas fueron revisadas. Además, para la toma de muestra de los hisopados rectales correspondientes al estudio 2 se contó con el consentimiento informado de los pacientes (Anexo III). Toda la información fue procesada y analizada por el personal competente para este desempeño.

5. Limitaciones del estudio

Aunque el estudio se realizó en un Hospital de nivel de atención terciaria, Centro de Referencia Nacional para diferentes disciplinas médicas, se trata de una sola institución de salud de La Habana por lo que los resultados no pueden generalizarse a otros hospitales donde diferentes factores podrían contribuir a infecciones similares.

Por otra parte, para el estudio de clonalidad realizado se utilizó la técnica de REP-PCR (*ERIC-PCR*) en lugar de la Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (*PFGE*, por sus siglas en inglés) que es la técnica de referencia internacional para los estudios de epidemiología molecular a corto plazo. Sin embargo, en los países de recursos limitados, como Cuba, *ERIC-PCR* es la más factible por su costo bajo relativo, simplicidad, rapidez con resultados confiables. Esta técnica se estandarizó previamente en el LNR-IAAS para garantizar su reproducibilidad.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Primer estudio. Caracterización microbiológica de EPC causantes de infecciones en el Hospital "Hermanos Ameijeiras", variables clínico-epidemiológicas de la infección, factores asociados, evaluación de opciones de tratamiento y relación con la mortalidad.

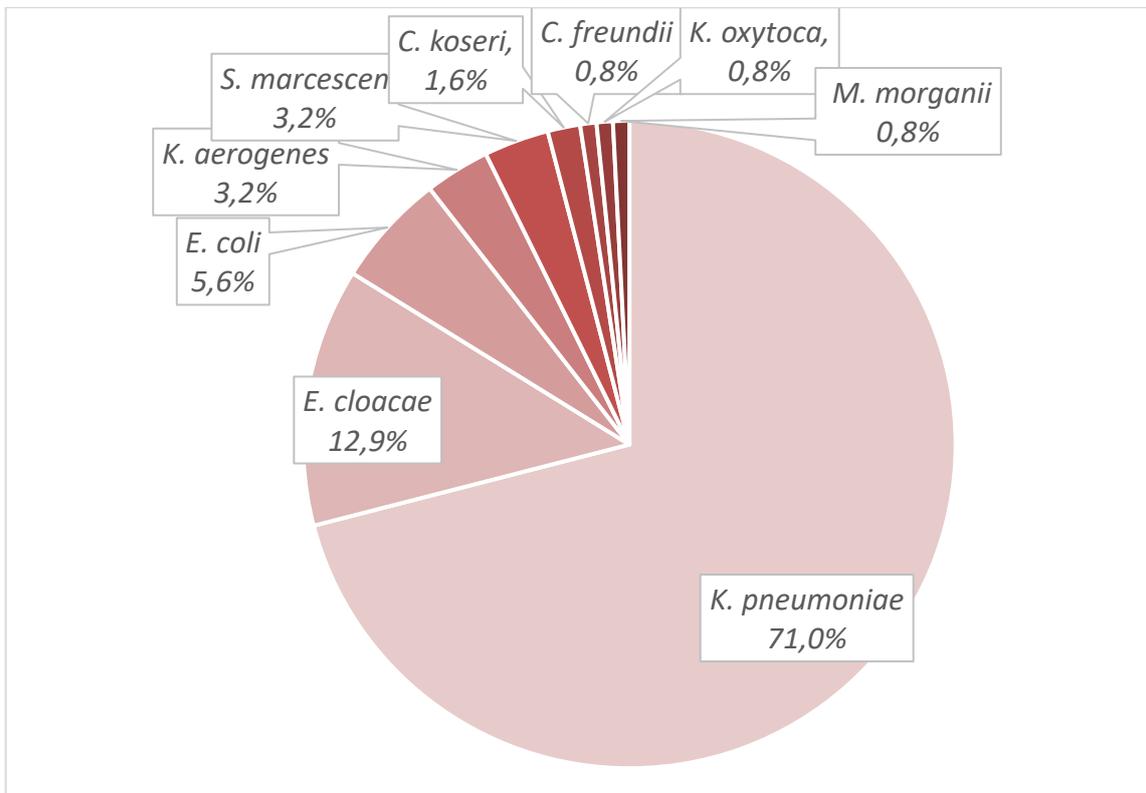
Se caracterizaron 124 aislados de EPC causantes de infecciones en pacientes hospitalizados en el Hospital "Hermanos Ameijeiras" durante 2017-2021. Como se muestra en la figura III.1.a, dentro del orden *Enterobacterales* la especie más productora de carbapenemasa fue *K. pneumoniae* (88/124, 71,0%) seguida por *Enterobacter cloacae* (16/124, 12,9%).

La mayor prevalencia de *K. pneumoniae* es concordante con el panorama internacional donde la emergencia de carbapenemasas en esta especie es alarmante, según un reporte de vigilancia de la resistencia antimicrobiana durante 20 años por SENTRY ^[88]. Además, la Red Latinoamericana y del Caribe de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA+) reporta que desde el año 2010 hasta 2019, los países en la región de América Latina notifican un incremento sostenido de la resistencia a los carbapenémicos en *K. pneumoniae*, que alcanzan prevalencias por encima del 60% en algunos países donde el mecanismo de resistencia principal es la producción de carbapenemasas ^[17].

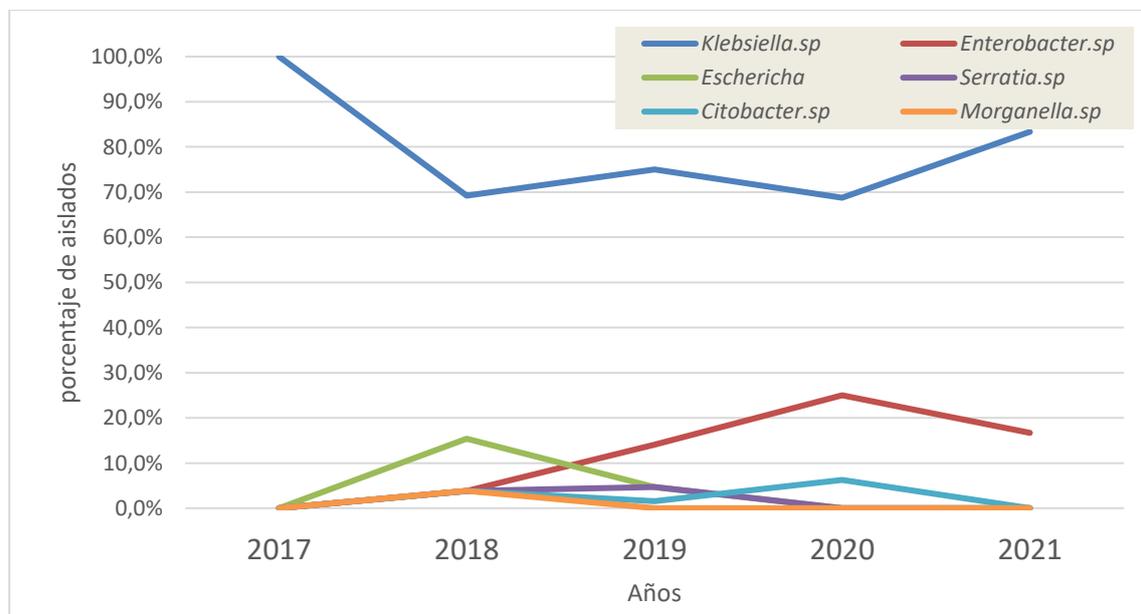
Un hallazgo relevante en esta investigación, fue la detección de 16 aislados de *E. cloacae* productores de carbapenemasas, cuya emergencia se observó desde 2018 (Figura III.1.b), lo que contrasta con solo dos aislados identificados durante el período 2015-2018. Esto podría deberse a una transferencia horizontal de la resistencia (gen *bla_{NDM}*) entre especies del género *Enterobacter* a través de un plásmido o una diseminación clonal lo que resalta la importancia de un monitoreo sistemático de la susceptibilidad antimicrobiana del género *Enterobacter* en el hospital, así como la necesidad de iniciar su vigilancia nacional para una mejor comprensión de la epidemiología y perfil de susceptibilidad de las especies relacionadas al género.

E. coli, *S. marcescens*, *K. aerogenes*, *C. koserii*, *C. freundii*, *K. oxytoca* y *M. morgani* se identificaron como otras especies productoras de carbapenemasas lo

que demuestra la diseminación amplia de este mecanismo emergente de resistencia dentro del orden *Enterobacterales* causante de infecciones en el hospital "Hermanos Ameijeiras".



(a)



(b)

Figura III.1. Distribución de especies de *Enterobacterales* productoras de carbapenemasas (n =124) (a) y su distribución por año (b). Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017- 2021.

La aparición y la propagación rápida de la resistencia a los antibióticos en *Enterobacterales* es una preocupación mundial. La pandemia COVID-19 acelera la resistencia a los carbapenémicos con la aparición de carbapenemasas antes inexistentes o combinación de dos o más enzimas en las mismas cepas [89]. Esto agrava las opciones limitadas de antibióticos eficaces contra las infecciones causadas por bacilos gramnegativos resistentes a carbapenémicos como *Enterobacterales* con la necesidad de incorporar nuevos fármacos para su control. Dicha problemática se ratifica con esta investigación al analizar los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de EPC causantes de infecciones en el Hospital "Hermanos Ameijeiras" en el período de estudio (Tabla III.1). Todos los aislados fueron resistentes a la ampicilina-sulbactam (SAM), piperacilina-tazobactam (TZP), ceftazidima (CAZ), cefotaxima (CTX) y a los carbapenémicos meropenem e imipenem donde solo un 30,0% (n=37) mostró una CIM a meropenem entre 4-8 µg/mL. Para el resto de los antibióticos no β-lactámicos el panorama fue similar, excepto para la colistina (CST) con un 25.2% de resistencia la que se detectó en diferentes especies con una CIM elevada (≥ 4 µg/ml), excepto en *E. coli*.

Tabla III. 1. Resistencia a los antibióticos en aislados de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas (n = 124). Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017- 2021.

Antibióticos ¹	% Resistencia						Total (n=124)
	<i>K. pneumoniae</i> (n=88)	<i>E. cloacae</i> (n=16)	<i>E. coli</i> (n=7)	<i>K. aerogenes</i> (n=4)	<i>S. marcescens</i> (n=4)	Otros ² (n=5)	
ATM	97,7	93,8	57,1	75,0	100,0	80,0	93,5
FOS	73,9	75,0	14,3	100,0	75,0	80,0	71,8
CIP	88,6	87,5	57,1	100,0	75,0	100,0	87,1
GEN	92,0	100,0	71,4	100,0	100,0	100,0	92,8
AMK	93,2	93,8	57,1	100,0	100,0	100,0	91,9
SXT	95,5	100,0	57,1	100,0	75,0	100,0	93,5
MRP	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
IMI	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
CST³	26,1	31,3	0,0	25,0	/	25,0	25,2
TGC	83,0	81,3	42,9	100,0	100,0	60,0	80,6

¹ Abreviatura: AMS, ampicilina-sulbactam; TZP, piperacilina-tazobactam; CAZ, ceftazidima; CTX, ceftaxima; FEP, cefepima; MRP, meropenem; IMI, imipenem; ATM, aztreonam; CIP, ciprofloxacina; GEN, gentamicina; AMK, amikacina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; FOS, fosfomicina; CST, colistina; TGC, tigeciclina. ² otros: *C. koseri*, *C. freundii*, *K. oxytoca*, *M. morgani*. ³ No se muestran % de resistencia de *S. marcescens* y *M. morgani*, porque ellos tienen resistencia intrínseca a C

Cerca del 90% de los aislados fueron resistentes a la fluoroquinolona, los aminoglucósidos y las sulfamidas seguida de un 71,8% y 80,6% resistente a la fosfomicina y la tigeciclina, respectivamente. Aunque la mejor actividad in vitro se observó para la colistina con un porcentaje relativamente bajo de resistencia, este supera las tasas reportadas en América Latina para *Enterobacterales* entre 2014 y 2019 (2,7-4,3%) mientras que en Europa (España, Italia, Grecia) la situación es más alarmante con cifras entre 20% y 40% ^[90].

En los bacilos gramnegativos, hasta 2015, la resistencia a la colistina se atribuye a la modificación cromosómica de la vía de biosíntesis del lipopolisacárido de la membrana externa (LPS) o, en algunos casos, a la eliminación completa del LPS de la membrana externa. Sin embargo desde finales de 2015, se publica el primer informe de cepas de *Enterobacteriaceae* resistentes a la colistina mediada por plásmidos codificado por el gen MCR (por su siglas de inglés mobile colistin resistance) lo que empeora la situación de la resistencia a escala mundial con reportes en todos los continentes. Este tipo de resistencia es capaz de propagarse por conjugación entre cepas de forma muy rápida ^[91], de aquí la importancia de la pesquisa del gen MCR en *Enterobacterales* recuperados de pacientes en el hospital y optimizar el uso de la colistina debido a la presión de selección de poblaciones resistentes que trae consigo el uso frecuente de esta ^[90].

Con relación a la fosfomicina, este es un antibiótico de amplio espectro con efecto bactericida, y es una de las opciones de tratamiento en las infecciones por *Enterobacterales* productores de BLEE y/o carbapenemasas. Un mecanismo principal de resistencia a la fosfomicina en *Enterobacterales* es la adquisición del gen *fosA* codificante de la enzima modificadora del antibiótico, que con frecuencia se encuentra en un plásmido con genes que codifican BLEE de tipo CTX-M, carbapenemasa de tipo NDM o enzimas modificadoras de aminoglucósidos. Esto implica que la propagación de la resistencia a la fosfomicina puede estar asociada con los genes BLEE/carbapenemasas, así como con el uso de antibióticos distintos a fosfomicina. Un estudio multicéntrico en China informa una tasa de resistencia a la fosfomicina en ERC entre 38,6% y 51,7%^[92], cifras más elevadas se notifican en Turquía con un reporte de 67,4% ^[93]. Por tanto, la resistencia a la fosfomicina

mediada por el gen *fosA* también debe monitorearse junto con los genes de β -lactamasa en *Enterobacterales*.

La tigeciclina es una de las pocas opciones terapéuticas para el tratamiento de infecciones debidas a patógenos bacterianos con resistencia múltiple [12], sin embargo, se describe las proteínas Tet (A, K y M) que conduce al desarrollo de resistencia adquirida en *Enterobacterales*, además, las variantes móviles del gen *tet(X)* de resistencia constituyen una emergencia en humanos y animales [94], por lo que el monitoreo de la resistencia a este fármaco es fundamental desde el punto de vista clínico, epidemiológico y bajo el enfoque de "Una Salud".

La prevalencia de la resistencia a la tigeciclina en ERC a nivel global es variable desde reportes de 0,6% a 96% según áreas geográficas y su incremento en el tiempo es una preocupación clínica [95]. Un estudio de vigilancia sobre la actividad de la tigeciclina frente a aislados de ERC de América del Norte, Europa, América Latina y Asia-Pacífico en 2016 mostró tasas de resistencia entre 6,9% a 12,2% [96].

El análisis de los patrones de resistencia (antibiotipos) de EPC arrojó que 65,3% (81/124) fueron XDR, seguido de PDR (21,0%, 26/124) y MDR (13,7%, 17/124). (Figura III.7, Acápito III.2 del estudio 2). Por tanto, más del 85% de las cepas fueron XDR y PDR, lo que constituye una alarma para cualquier sistema de salud. Las cepas XDR, las cuales son sensibles solo a uno o dos de los 12 grupos farmacológicos efectivos en el tratamiento de *Enterobacterales* o las PDR, resistentes a todos los grupos de farmacológicos [12], constituyen un gran desafío para los médicos de asistencia del Hospital, objeto de estudio, ya que no se cuenta con antibióticos de última generación aprobados por la FDA para combatir las infecciones por este tipo de cepas como ceftazidima-avibactam, aztreonam-avibactam, meropenem-vaborbactam, imipenem-relabactam y el más reciente el cefiderocol [69].

Los patrones de resistencia de *Enterobacterales* productores de NDM muestran una amplia resistencia a los antibióticos β -lactámicos y no se inhibe por los inhibidores de β -lactamasas, excepto por el aztreonam. Sin embargo, cuando está presente la co-expresión, algunos estudios han demostrado que existen asociaciones notables entre los genes *bla*_{NDM} y muchos otros genes de resistencia, como los genes que codifican las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE),

AmpC u otras clases de carbapenemasas (KPC) que pueden generar resistencia al aztreonam ^[97]. Además, la combinación con metilasas de ARNr ribosómico (16S-RMTasas) puede conferir un alto nivel de resistencia a todos los aminoglucósidos ^[98]. Por tanto son pocos los antibióticos eficaces para EPC, entre ellos la colistina, la tigeciclina y la fosfomicina ^[99].

En los 124 aislados de *Enterobacterales* caracterizados se detectó la producción de metalo- β -lactamasa y en tres de ellos la serin carbapenemasa mediante el método fenotípico. En 55, de los 124 aislados, se confirmó por PCR la producción de NDM (metalo- β -lactamasa) y tres KPC (serin carbapenemasa), estas últimas en coproducción con tres de las NDM. Los restantes aislados (69 aislados) se confirmaron como productores de la enzima NDM por inmunocromatografía. No se detectaron otras carbapenemasas como VIM y OXA-48. La distribución de los tipos de carbapenemasas según especies productoras de *Enterobacterales* se muestra en la tabla III.2.

La carbapenemasa tipo NDM se codifica por el gen *bla*NDM de origen plasmídico, se notifica, por primera vez, en Nueva Delhi, India, en 2008, llega a Las América en 2011 ^[100] y en 2012 Cuba reporta su primer hallazgo en una especie inusual del género *Acintobacter* (*Acinetobacter soli*) ^[101]. El aumento del flujo internacional de la población y el turismo médico, también desempeñan un papel importante en la propagación de la resistencia a los carbapenémicos relacionada con las carbapenemasas a nivel mundial ^[102].

Tabla III.2. Distribución de los tipos de carbapenemasas según metodologías y especies productoras (n = 124 aislados). Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017-2021.

Método	Tipos de carbapenemasas	Especies (n=124)					
		<i>K. pneumoniae</i> (n=88)	<i>E. cloacae</i> (n=16)	<i>E. coli</i> (n=7)	<i>K. aerogenes</i> (n=4)	<i>S. marcescens</i> (n=4)	Otros* (n=5)
PCR (55 aislados)	NDM	38	5	4	1	1	3
	KPC	2	0	0	1	0	0
Inmunocromatografía (69 aislados)	KPC	0	0	0	0	0	0
	NDM	48	11	3	2	3	2
	VIM	0	0	0	0	0	0
	OXA-48	0	0	0	0	0	0

Otros: *C. koseri*, *C. freundii*, *K. oxytoca*, *M. morgani*

Aunque la carbapenemasa KPC se detectó, por primera vez, en el hospital "Hermanos Ameijeiras" en 2011 (primer reporte en Cuba), se detectó un aumento de NDM durante 2013 según la vigilancia local del hospital con 5,9 % de metalo- β -lactamasas en comparación con 1,2 % de KPC [21].

En una revisión (2021) se reporta que *Enterobacterales* productores de carbapenemasa tipo KPC están extendidos en América Latina y el Caribe, aunque se notifica a *Enterobacterales* productoras de NDM en varios países de la región [103]. A nivel mundial, *Enterobacterales* productoras de NDM son más prevalentes en Asia y Europa [48], sin embargo en Cuba, *Enterobacterales* productores de NDM, también constituyen un evento epidemiológico alarmante, lo que pudiera estar relacionado con los viajeros o inmigrantes desde áreas endémicas y una posterior diseminación local silente en el país. Según el reporte de la Organización de las Naciones Unidas, la inmigración en Cuba procede con frecuencia elevada de España y Rusia [104], y los visitantes con mayor frecuencia de Europa y Asia donde

entre 2014 y 2019 ocupan del 52,7% al 65,2% de los viajeros ^[105], continentes de prevalencia elevada de NDM.

Desde el año 2019, cada vez más, informes de los Laboratorios Nacionales de Referencia miembros de ReLAVRA+, emiten alertas sobre el aumento del número de aislados que expresan doble carbapenemasas, especialmente la coproducción de NDM y KPC ^[17]. Entre los países más afectados se encuentran Argentina, Uruguay, Paraguay, Guatemala y Ecuador^[89, 106, 107]. Cuba está exenta de esta emergencia epidemiológica; como se puede apreciar en este estudio tres *K. pneumoniae* coprodujeron NDM y KPC, situación que también se detectó en los aislados colonizantes del tracto gastrointestinal (Acápite III.2, Estudio sobre portadores fecales de EPC). Esto pudiera deberse a la presión de selección por el aumento de uso de carbapenémicos. La coexpresión de diferentes genes de carbapenemasas en un mismo aislado constituye una mayor amenaza que incrementa el riesgo de mayor diseminación y un mayor desafío clínico terapéutico ^[91].

Ante la propagación de bacterias coproductoras de carbapenemasas y el cambio en la distribución geográfica la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud enfatiza la importancia de un diagnóstico microbiológico adecuado y la implementación coordinada de programas de prevención y control de infecciones, así como normas para optimizar el uso de antimicrobianos.

Los resultados del presente estudio revelan la situación de EPC en el hospital "Hermanos Ameijeiras" de La Habana, durante el periodo de estudio, la que demuestra la emergencia y la diseminación de *Enterobacterales* productores de NDM, principalmente *K. pneumoniae*. Esto resalta la importancia del fortalecimiento de la vigilancia microbiológica y epidemiológica de la resistencia a los carbapenémicos y sus determinantes genéticos no solo en *Enterobacterales* sino también en otros bacilos gramnegativos por la transferencia horizontal de los genes codificantes.

En relación al estudio de casos-contróles para explorar las variables clínico-epidemiológicas de los episodios de infección por EPC y evaluar las opciones de

tratamiento y la relación con la mortalidad, se identificaron 88 casos de infecciones asociadas a la asistencia sanitaria por EPC (Figura III.2).

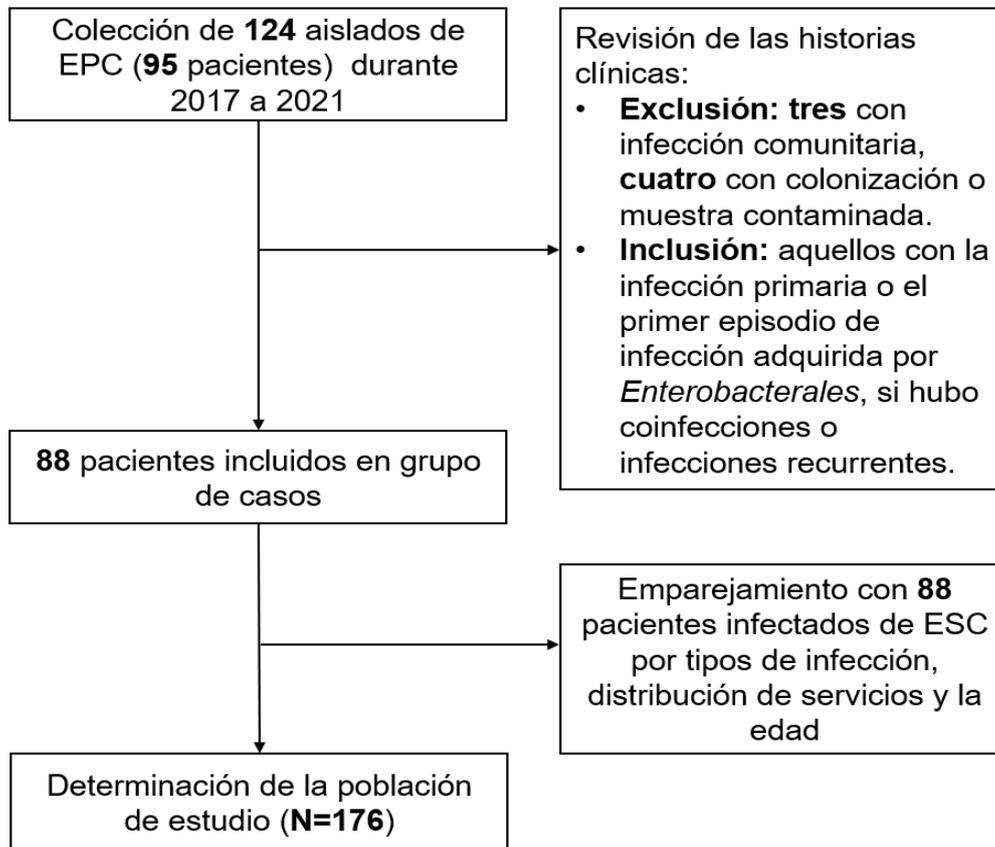


Figura III.2. Flujograma sobre la determinación de la población del estudio casos-contrroles con infección por *Enterobacteriales* productores de carbapenemasas y sensibles a los carbapenémicos. Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017-2021.

La distribución sobre edad en los casos osciló entre 20 y 87 años, con una media de $55,5 \pm 14,8$; la distribución de los casos según los servicios hospitalarios más de la mitad de los pacientes procedían de la unidad de cuidados intensivos (28,4%) y del servicio de urología (25%); en cuanto al sitio de la infección, la mayoría de los aislados de EPC procedían de sangre (34,1%), la orina (34,1%) y de herida quirúrgica (20,5%). Los *p*-valores de todas estas variables fueron superiores a 0,05, y no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de casos y el grupo de control con respecto a la edad, los servicios y los lugares de infección (Tabla III. 3).

Tabla III. 3. Datos demográficos y clínicos de la población de estudio (n=176). Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017-2021.

Variables	Casos(n=88)	Controles(n=88)	p
Media de edad ± DS (rango)	55,5±14,8 (20 - 87)	53,2±15,5 (22 - 86)	0,31
Servicios			
Unidades de Cuidados Intensivos (ICU y CCV)	25 (28,4%)	23 (26,1%)	0,74
Urología/Litotricia	22 (25,0%)	22 (25,0%)	1
Cirugía General	7 (8,0%)	6 (6,8%)	0,77
Hematología	4 (4,5%)	4 (4,5%)	1
Nefrología	4 (4,5%)	4 (4,5%)	1
Medicina Interna	6 (6,8%)	5 (5,7%)	0,76
Trasplante	4 (4,5%)	6 (6,8%)	0,51
Neurología/Neurocirugía	4 (4,5%)	4 (4,5%)	1
Miscelaneas	12 (13,6%)	14 (15,9%)	0,67
Sitio de Infección			
Infección del torrente sanguíneo	30 (34,1%)	30 (34,1%)	1
Infección del tracto urinario	30 (34,1%)	31 (35,2%)	0,87
Herida quirúrgica	18 (20,5%)	18 (20,5%)	1
Neumonía	7 (8,0%)	6 (6,8%)	0,77
Infección intra-abdominal	2 (2,3%)	2 (2,3%)	1
Infección intracraneal	1 (1,1%)	1 (1,1%)	1

Ante el progresivo problema de salud pública que representa EPC, la exploración de los factores de riesgo para la prevención y el control de las infecciones que producen, y la búsqueda de la mejor opción de tratamiento se convierten en directrices esenciales de investigación.

A nivel internacional se reportan diferentes factores de riesgos de infección por EPC como son el ingreso en UCI, el uso de CVC, el trasplante de órganos o células madre, la ventilación mecánica, así como la exposición a antibióticos de amplio espectro^[108-110]. Algunos de estos factores y otros se exploraron en esta investigación en pacientes con infecciones por EPC y ESC como se muestran en la Tabla III. 4.

Mediante un análisis univariado, la infección por EPC se asoció con estancia de hospitalización ($p < 0,01$), derivación prolongada ($p=0,03$), sonda nasogástrica ($p=0,01$), ventilación mecánica ($p=0,03$), traslado de otro centro sanitario ($p=0,02$), uso previo de esteroides ($p < 0,01$), uso previo de dos o más antibióticos ($p < 0,01$), uso previo de cefalosporinas de 3ra o 4ta generación ($p < 0,01$), uso previo de aminoglucósidos ($p < 0,01$) y uso previo de carbapenémicos ($p < 0,01$). En el análisis multivariado, uso de esteroides (OR: 3,22, IC95%: 1,36-7,66, $p < 0,01$), uso previo de dos o más antibióticos (OR: 4,04, IC95%: 1,40-11,71, $p=0,01$), el uso previo de cefalosporinas de 3ra o 4ta generación (OR: 2,40, IC95%: 1,06-5,44, $p=0,04$) y el uso previo de carbapenémicos (OR: 4,77, IC95%: 1,17-19,35, $p=0,03$) fueron los factores de riesgo independientes para contraer una infección por EPC.

Tabla III. 4. Factores de riesgo asociados a las infecciones por *Enterobacteriales* productores de carbapenemasas y *Enterobacteriales* susceptibles a los carbapenémicos. Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017-2021.

Factores	Casos (N=88)	Controles (N=88)	Análisis univariado		Análisis multivariado	
			OR (IC95%)	p	OR (IC95%)	p
Características clínicas						
Puntuación media de Índice de Charlson±SD	3,1±1.9	3,1±2.2	1,01 (0,88 -1,17)	0,86	—	—
Promedio de días de hospitalización antes de la infección	27,1±20,0	18,1±14,5	1,03 (1,01 -1,05)	< 0,01	1,00 (0,97 - 1,03)	0,95
Ingreso previo seis meses	36 (40,9%)	28 (31,8%)	1,48 (0,80 -2,75)	0,21	—	—
¹ Derivación Prolongada (cerebral, torácica, abdominal)	20 (22,7%)	9 (10,2%)	2,58 (1,10 -6,05)	0,03	0,93 (0,30 - 2,95)	0,91
Acceso Vascular profundo	43 (48,9%)	31 (35,2%)	1,76 (0,96 -3,22)	0,07	0,52 (0,19 -1,43)	0,21
Sonda vesical (> 48h)	66 (75,0%)	57 (64,8%)	1,63 (0,85 -3,13)	0,14	1,52 (0,63 -3,68)	0,36
Sonda Nasogástrica	36 (40,9%)	20 (22,7%)	2,35 (1,22 -4,53)	0,01	1,45 (0,37 -5,76)	0,60
Ventilación Mecánica	26 (29,5%)	14 (15,9%)	2,22 (1,07 -4,61)	0,03	0,52 (0,12 -2,23)	0,34
Cirugía	71 (80,7%)	74 (84,1%)	0,79 (0,36 -1,72)	0,55	—	—

Diálisis	9 (10,2%)	10 (11,4%)	0,89 (0,34 -2,31)	0,81	—	—
Traslado de centro sanitario	15 (17,0%)	5 (5,7%)	3,41 (1,18 -9,84)	0,02	2,98 (0,91 -9,69)	0,07
Uso de esteroides	39 (44,3%)	16 (18,2%)	3,58 (1,80 -7,11)	< 0,01	3,22 (1,36 -7,66)	< 0,01
Uso previo de dos o más antibióticos	63 (71,6%)	23 (26,1%)	7,12 (3,67 - 13,83)	< 0,01	4,04 (1,40 -11,71)	0,01
Uso previo de antibióticos (≥7d)						
Agentes β-lactámicos combinados	20 (22,7%)	14 (15,9%)	1,56 (0,73 -3,32)	0,25	—	—
Cefalosporin a 1ra o 2da generación	8 (9,1%)	4 (4,5%)	2,10 (0,61 -7,25)	0,24	—	—
Cefalosporin a 3ra o 4ta generación	53 (60,2%)	26 (29,5%)	3,61 (1,93 -6,75)	< 0,01	2,40 (1,06 -5,44)	0,04
Aminoglucósido	38 (43,2%)	13 (14,8%)	4,39 (2,13 -9,05)	< 0,01	2,06 (0,74 -5,72)	0,16
Fluoroquinolonas	31 (35,2%)	21 (23,9%)	1,74 (0,90 -3,35)	0,1	0,78 (0,28 -2,17)	0,63
Carbapenémicos	27 (30,7%)	4 (4,5%)	9,30 (3,09- 27,94)	< 0,01	4,77 (1,17 -19,35)	0,03
Sulfonamidas	11 (12,5%)	6 (6,8%)	1,95 (0,69 -5,54)	0,21	—	—

¹ **Derivación prolongada:** Derivación cerebral > 5 días; derivación torácica > 3 días; derivación abdominal > 3 días.

En este estudio, se exploraron los factores de riesgo asociados a la infección por EPC en los pacientes donde se encontraron factores independientes como el uso previo de esteroides y el uso previo de dos o más antibióticos (mayor que siete días). Entre los antibióticos, la exposición previa (mayor que siete días) a cefalosporinas (tercera o cuarta generación) o los carbapenémicos se asoció a la infección por EPC.

Un estudio de casos-controles entre EPC y ESC realizado en Arabia Saudita por Garbati y colaboradores mostró que, además del uso de los carbapenémicos, la duración de la hospitalización y los procedimientos invasivos, también, fueron factores de riesgo independientes ^[111].

Es importante destacar que, en esta investigación, debido a que el grupo control seleccionado fue una población infectada por ESC, los factores de riesgo podrían influir en la conversión de ESC a ERC, pero se requieren estudios controlados más rigurosos para demostrarlo.

Como se comentó antes, EPC constituyen uno de los patógenos más desafiantes en el control de las infecciones hospitalarias por las limitadas opciones de tratamiento, y la alta capacidad de propagación en entornos hospitalarios con ocurrencias de brotes y mortalidad elevada ^[33].

En esta investigación la mortalidad por toda causa a los 60 días en los pacientes de grupo de casos fue del 21,6% (19/88), en comparación con los pacientes infectados por ESC que tuvo una mortalidad 10,2% (9/88), pero en el riesgo de mortalidad entre los dos grupos no existió diferencia significativa (HR=2,094, p = 0,068) (Figura III. 3).

La Figura III. 4 muestra la comparación del riesgo de mortalidad en los diferentes tipos de infección, donde se observa un mayor riesgo en las infecciones asociadas al torrente sanguíneo y la neumonía ($p < 0,001$) con una tasa de mortalidad de 46,6% y 71,4%, respectivamente.

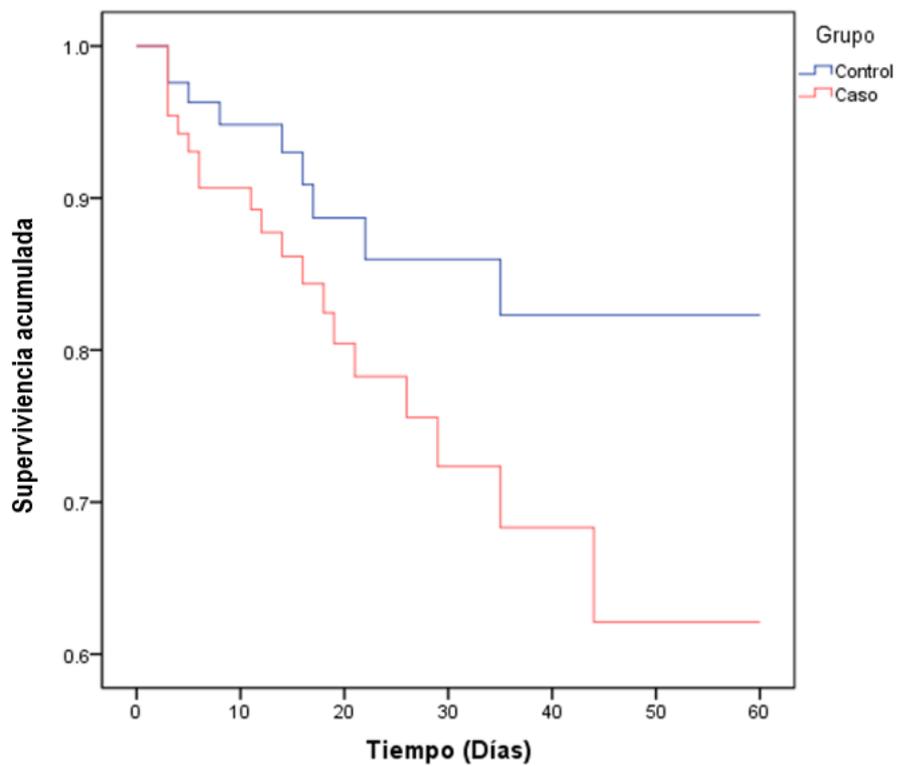


Figura III. 3. Estimaciones de Kaplan-Meier (IC 95%) de la probabilidad de supervivencia para las infecciones por *Enterobacterales* productoras de carbapenemasas (Caso) y *Enterobacterales* susceptibles a los carbapenémicos (Control) con seguimiento de 60 días (HR=2,094, p=0,068). Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017-2021.

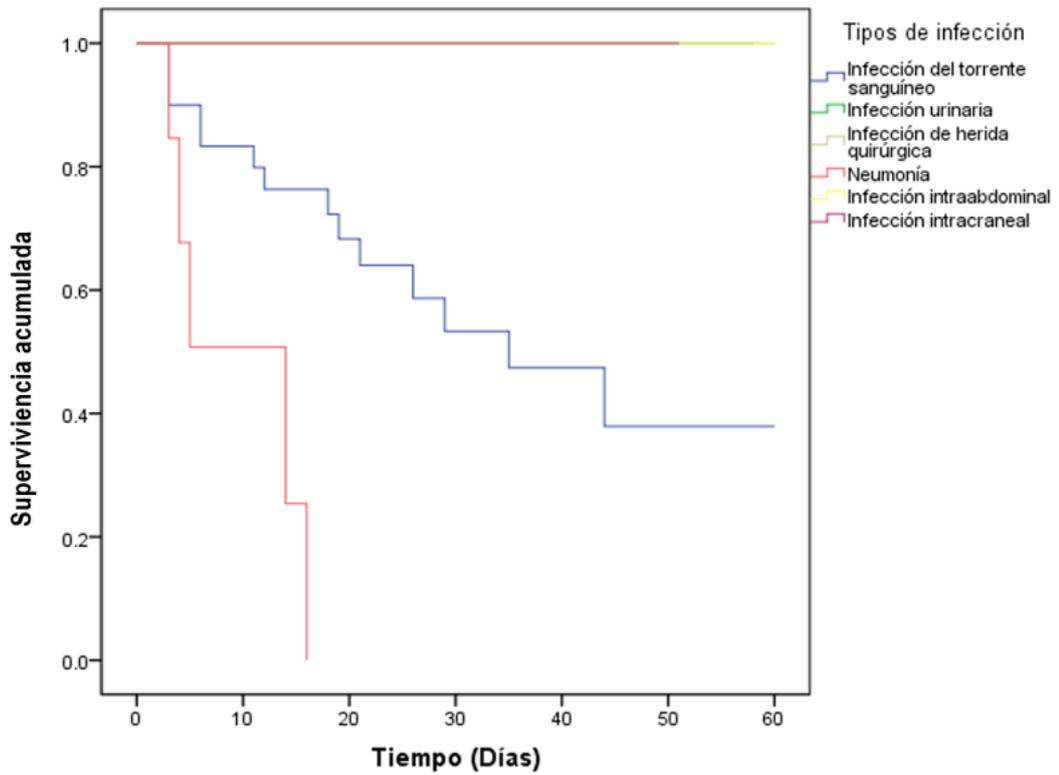


Figura III. 4. Estimaciones de Kaplan-Meier (IC 95%) de la probabilidad de supervivencia de los infectados por EPC en diferentes tipos de infección con seguimiento de 60 días ($p < 0,001$). Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017-2021.

Otros estudios informan tasas de mortalidad aún más altas, como un estudio de revisión (2016) que muestra tasas entre el 30 % y el 75 % para las infecciones por EPC [112].

Por otro lado, el presente estudio analizó la probabilidad de supervivencia entre los pacientes que infectaron por EPC y ESC, bajo las mismas condiciones subyacentes de los pacientes (edad, índice de Charlson y servicios de hospitalización), el riesgo de mortalidad de los pacientes infectados por EPC fue dos veces más que los pacientes infectados por ESC en el ámbito hospitalario, aunque el valor de p estuvo en la región límite (IC 95%, $p = 0,068$). Garbati y colaboradores en Arabia Saudita, también, hace una comparación del riesgo de mortalidad entre los pacientes infectados por EPC y ESC, los infectados por EPC tiene tres veces más de riesgo de morir que los infectados por ESC ($p = 0.031$). [111].

Con relación al tratamiento de la infección por EPC, el 39,8% (35/88) de los pacientes se trataron con monoterapia, mientras que entre los regímenes combinados se utilizaron, principalmente, el basado en colistina (38,6%), el basado en tigeciclina (5,7%) y el basado en colistina-tigeciclina (5,7%). Mediante el análisis, el régimen basado en colistina fue protector contra la mortalidad por infecciones del torrente sanguíneo por EPC (PR=0,40, $p=0,03$), mientras que, en la neumonía, el régimen basado en tigeciclina o en colistina-tigeciclina pudiera ser protector contra la mortalidad, pero no fue estadísticamente significativo (PR=0,52, $p=0,28$). (Tabla III. 5). En los casos de la infección del tracto urinario o de la herida quirúrgica, no ocurrieron muertes ni con la monoterapia ni con la combinación de diferentes regímenes; en un número limitado de casos de infección intra-abdominal (dos casos) e intracraneal (un caso), ambos se trataron con un régimen basado en colistina, y no hubo muertes.

Tabla III. 5. Análisis univariado de las opciones de tratamiento asociadas a la mortalidad a 60 días. Hospital "Hermanos Ameijeiras", 2017-2021.

Opciones de tratamiento ¹	Infección de torrente sanguíneo				Neumonía			
	Vivos (caso=16)	Fallecidos (caso=14)	RP IC 95%	p	Vivos (caso=2)	Fallecidos (caso=5)	PR IC 95%	p
Monoterapia	3 (18,6%)	5 (35,7%)	1,53 (0,73-3,19)	0,26	0 (0,0%)	2 (40,0%)	1,43 (0,61-3,32)	0,48
Combinación basada en colistina	11 (68,8%)	4 (28,6%)	0,40 (0,16-0,99)	0,03	0 (0,0%)	3 (60,0%)	1,75 (0,68-4,53)	0,29
Combinación basada en tigeciclina	0 (0,0%)	2 (14,3%)	1,93 (1,00-3,72)	0,21	1 (50,0%)	0 (0,0%)	0,52 (0,13-1,96)	0,28
Combinación basada en colistina-tigeciclina	1 (6,25%)	2 (14,3%)	1.50 (0,61-3,71)	0,45	1 (50,0%)	0 (0,0%)	0,52 (0,13-1,97)	0,28

¹ **Combinación basada en colistina:** colistina / aminoglucósidos o fluoroquinolona o fosfomicina o carbapenémicos; **Combinación basada en tigeciclina:** Tigeciclina / aminoglucósidos o fosfomicina; **Combinación basada en colistina-tigeciclina:** colistina-tigeciclina or colistina-tigeciclina / fosfomicina.

En el contexto actual de Cuba es vital explorar opciones de tratamiento eficaces ante la limitación de recursos lo que propicia la evolución favorable del paciente y una mejor optimización de estos.

En la actualidad, el tratamiento óptimo para las infecciones por EPC aún no se ha definido y suele implicar el uso de tigeciclina, colistina, amikacina y fosfomicina, combinadas entre sí y con carbapenémicos ^[113]. En este estudio, la mayoría de los pacientes con infección por EPC recibieron un tratamiento combinado, sobretodo, con regímenes basados en colistina, tigeciclina y colistina-tigeciclina. El análisis reveló que los distintos regímenes combinados pueden tener ventajas en diferentes tipos de infecciones. Los regímenes basados en colistina mostraron una ventaja significativa ($p = 0,03$) en las infecciones del torrente sanguíneo causadas por EPC, mientras que los regímenes que contenían tigeciclina mostraron alguna ventaja en la neumonía causada por EPC, aunque esto no fue estadísticamente significativo ($p = 0,28$). Esto está relacionado con las concentraciones tisulares de antibióticos en el sitio blanco que contribuyen a los efectos terapéuticos, y algunos estudios demuestran que no es posible medir la colistina en el lavado broncoalveolar después de administrar dosis por vía intravenosa repetidas de 2 millones de unidades internacionales (UIM) de colistina cada 8 h a pacientes críticos mientras que la tigeciclina tiene un gran volumen de distribución (> 12 L/kg), y penetra bien en los pulmones, sin embargo, alcanza bajas concentraciones en el suero ^[114, 115]. En cuanto a las infecciones abdominales e intracraneales, debido al número muy limitado de casos observados, no se encontraron muertes en los tres pacientes tratados con regímenes basados en colistina, pero se necesitan más investigaciones al respecto. Mientras tanto, en infecciones del tracto urinario e infecciones del sitio quirúrgico, no se produjeron muertes con el uso de monoterapia o terapia combinada. Sin embargo, la gran mayoría de estudios y diferentes consensos de expertos recomiendan el uso de terapia combinada para pacientes con infección por EPC ^[75, 113, 116].

Un estudio de meta-análisis de 2018 que evalúa el efecto de los tratamientos en los resultados de la mortalidad en pacientes con infecciones graves por EPC, muestra que la monoterapia presenta un mayor riesgo de mortalidad, donde los pacientes reciben monoterapia que tienen el doble de probabilidad de morir en comparación con los tratados con múltiples antibióticos activos. Este riesgo aumenta, de forma notable, en los pacientes con bacteriemia o sepsis generalizada, donde los tratados con monoterapia tienen 3,8 veces más probabilidades de morir en comparación con los pacientes que recibieron terapia combinada [75]. Por otro lado, las terapias combinadas, además de sus efectos antibacterianos sinérgicos para mejorar la eficacia, también pueden ser eficaces para prevenir la evolución de resistencias que se reporta por autor *Singh N* y colaborales. [117].

En la actualidad, varios fármacos activos contra bacilos gramnegativos resistentes a los carbapenémicos se aprueban para uso clínico [69], incluidos los agentes combinados de β -lactámicos, como ceftazidima-avibactam, imipenem-cilastatina/relebactam, aztreonam-avibactam, meropenem-vaborbactam, y la novedosa cefalosporina conjugada con sideróforo llamada cefiderocol, desafortunadamente ninguno está disponible en Cuba. Estos son antibióticos muy costosos para países de bajos y medianos recursos con un acceso muy desigual, lo que lleva inequidad en el manejo de infecciones graves, principalmente en la región de Las Américas.

1.1. Conclusión parcial del primer estudio

La aparición y diseminación de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas tipo NDM asociadas a IAAS es un suceso epidemiológico preocupante. A partir de este estudio, se reporta que el uso de esteroides y el uso previo (más de siete días) de dos o más antibióticos, la exposición previa (más de siete días) a cefalosporinas (de tercera o cuarta generación) o carbapenémicos son los factores independientes de una infección por EPC. Dicha infección presentó mayor mortalidad en comparación con las infecciones por ESC, especialmente en la bacteriemia y la neumonía. Aunque el tratamiento de la infección por *Enterobacterales* productores de NDM es limitado, la terapia combinada se mantiene como la opción de tratamiento preferida, y los diferentes regímenes combinados pueden tener ventajas en diferentes tipos de infecciones. En las

infecciones del torrente sanguíneo, los regímenes basados en colistina muestra una ventaja significativa y en la neumonía por EPC, los regímenes que contienen tigeciclina muestra cierta ventaja.

2. Segundo estudio: Prevalencia de colonización intestinal por EPC, factores asociados para la adquisición de la colonización e infección tras colonización, caracterización microbiológica de los aislados con estudio de la relación genética entre aislados colonizantes y los colonizantes relacionados con infección.

En la actualidad, numerosas investigaciones sobre la relación entre colonización e infección por EPC, especialmente, en pacientes críticos, muestran el papel de los portadores fecales silentes en el incremento de la prevalencia de las infecciones por estos aislados emergentes con mayor impacto en la tasa de mortalidad [118, 119]. Por tanto, la colonización intestinal por EPC entre los pacientes hospitalizados se considera un riesgo elevado para las infecciones adquiridas en los hospitales, donde el cribado de portadores intestinales (cultivos de vigilancia epidemiológica) se convierte en una de las acciones preventivas más importantes para el control y prevención de las infecciones por *Enterobacterales* resistentes a los carbapenémicos en las instituciones de salud y constituye una de las recomendaciones de la OMS para tal fin [10].

En 2008, Israel implementa los cultivos de vigilancia epidemiológica en todas las instituciones de salud tras no poder controlar la epidemia por EPC después de más de un año de intervención [120]; tras el éxito de esta medida preventiva, el CDC y el Centro Europeo para Control de Enfermedades proponen la realización de los cultivos de vigilancia epidemiológica para la detección de portadores fecales de EPC como estrategia central para prevenir la propagación de esa emergencia en las instituciones médicas [121, 122].

En Cuba los estudios sobre EPC se han centrado en los aislados de muestras clínicas de pacientes hospitalizados por lo que no existen datos sobre el estado de portador fecal de EPC (colonización intestinal) por lo que este estudio constituye el primero de su tipo en el país donde se estimó la prevalencia de colonización de EPC en pacientes hospitalizados, se exploraron los factores de riesgo de

colonización y los factores de riesgo para la adquisición de infección tras una colonización.

Un total de 297 pacientes ingresados en diferentes servicios referenciados anteriormente se cribaron mediante hisopado rectal durante el período noviembre 2021-febrero 2022. Se identificaron 46 (15,5%) pacientes con cultivos de vigilancia positivos para EPC.

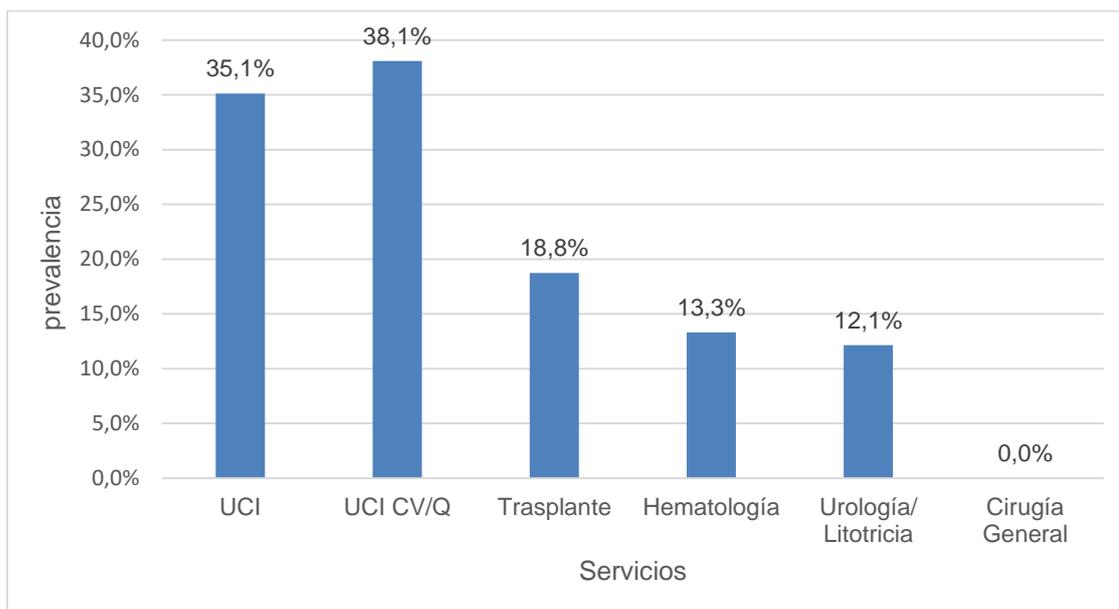
De los 46 portadores, se detectaron 12 pacientes (26,1%) con colonización simultánea por dos especies diferentes de EPC. Del total de pacientes colonizados, 37 (80,4%) se identificaron en el primer cribado (≤ 48 h de admisión) y se consideraron como casos de "colonización intestinal previa" a la admisión mientras que nueve (19,6%) se identificaron en ≥ 48 horas ("colonización intestinal adquirida"). El 86,9% (n=40) tuvo hospitalización previa en el último año, con un intervalo mínimo de un mes y máximo de nueve meses lo que pudiera justificar la prevalencia elevada de colonización intestinal previa a la admisión ya que muchos pacientes están colonizados por EPC al alta hospitalaria, estado que puede durar hasta un año con un riesgo de propagación a los miembros del hogar, en la comunidad y el medio ambiente [7].

El 43,5% (n=20) recibió tratamiento previo de antibiótico 30 días previos, entre ellos, ocho se trataron con cefalosporinas (n=8), siete con fluoroquinolonas (n=7), aminoglucósidos (n=6), carbapenémicos (3) y piperaciclina-tazobactam (n=1) (Figura III.6).

Tabla III.6. Epidemiología de la colonización intestinal por *Enterobacteriales* productores de carbapenemasas en pacientes hospitalizados. Hospital "Hermanos Ameijeiras", noviembre 2021-febrero 2022.

Variables	Casos (n=46)	porcentaje
Cronografía de detección		
1er cribado	37	80,4
2do cribado	7	15,2
3er cribado	1	2,2
4to cribado	1	2,2
Tipo de colonización		
Mono-colonizado por EPC	34	73,9
Co-colonizado por dos especies de EPC	12	26,1
Antecedentes		
Hospitalización previa	40	86,9
Exposición previa de antibióticos	20	43,5

En la figura III.5, se presenta la prevalencia de colonización intestinal de EPC acorde a los servicios hospitalarios. A excepción del servicio de cirugía general donde no se detectaron pacientes colonizados, en los demás servicios la prevalencia de colonización intestinal osciló entre 12,1% y 38,1%. Es importante resaltar que la prevalencia de portadores en las UCI (UCI y UCI cardiovascular-quirúrgico) fue dos veces mayor que en el resto de los servicios. Esto es concordante con el reporte de Soria y colaboradores en Ecuador, donde notifica una prevalencia 37,7% de EPC en un estudio multicéntrico en UCI ^[123].



Leyenda: UCI, unidad de cuidados intensivos; UCI CV/Q, unidad de cuidados intensivos cardiovascular-quirúrgico.

Figura III. 5. Colonización intestinal por *Enterobacteriales* productores de carbapenemas según servicio. Hospital "Hermanos Ameijeiras", noviembre 2021-febrero 2022.

El estado de portador fecal de EPC lo que constituyó un desafío potencial para el control de la transmisión de las cepas entre pacientes y ambiente hospitalario. Este resultado alcanza o supera al de otros países endémicos de EPC con las siguientes tasas de colonización intestinal reportadas: 12,2% en un estudio multicéntrico (Japón, 2017) ^[124], 6,8% en un hospital universitario (Brasil, 2017) ^[125], 16,1% en un hospital universitario (España, 2017) ^[126] y 16,7% en un hospital universitario (China, 2020) ^[127]. Además, cabe destacar que en 26.1% pacientes colonizados co-existieron dos especies diferentes de EPC, hallazgo similar informaron Snyder y colaboradores en Estados Unidos con 21% de los pacientes colonizados por al menos dos especies diferentes de bacterias gramnegativas multirresistentes en UCI ^[128], no obstante, una cifra inferior (8,9%) de co-colonización por EPC, también, se reporta en este país ^[129].

Ante el incremento progresivo de EPC en el hospital "Hermanos Ameijeiras" el riesgo de co-colonización por diferentes especies también puede estar favorecido. Esto podría tener un impacto desfavorable para la seguridad del paciente, la optimización de uso de antibióticos y el control de las infecciones.

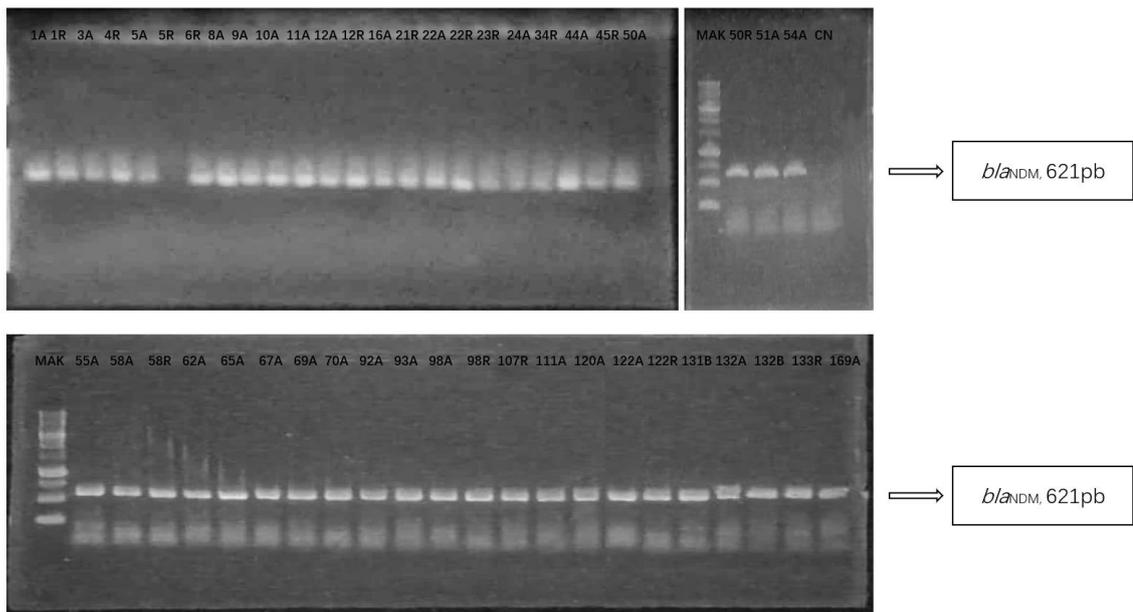
Desde el punto de vista clínico y epidemiológico los cultivos de vigilancia epidemiológica deben realizarse a todo paciente que ingresa en un hospital para la detección precoz de la colonización por bacilos gramnegativos resistentes a los carbapenémicos y el aislamiento inmediato del paciente colonizado. Esto es válido, sobretodo en instituciones hospitalarias de alto riesgo epidemiológico de infecciones por bacilos gramnegativos productores de carbapenemasas, sin embargo, es una medida epidemiológica muy costosa.

En este estudio, se observó que entre los portadores 86,9% tuvieron hospitalización previa en el último año y 43,5% recibieron un tratamiento previo de antibiótico; además, las tasas de detección de la colonización en los servicios variaron entre 0% y 36,1%, aunque en el mismo hospital. Estos indican que la tasa de portadores no sólo está relacionada con los factores de riesgo, sino también con el contexto epidemiológico local.

De los 46 pacientes colonizados, se aislaron 58 *Enterobacterales* productores de carbapenemasa. Las especies más prevalentes fueron *K. pneumoniae* (41,4%, n=24), seguido de *E. coli* (32,8%, n=19) y *E. cloacae* (15,5%, n=9), mientras que se detectó un aislado de *C. koserii*, *C. freundii*, *M. morgani*, *K. ornithinolytica*, *K. aerogenes*, *K. oxytoca*. Es evidente que las especies más prevalentes son las más frecuentes causantes de infecciones dentro de EPC como se mostró en el estudio 1.

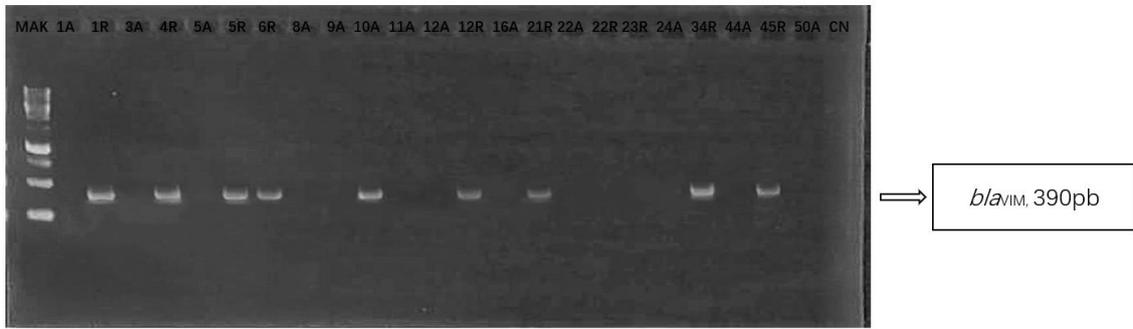
Todos los aislados productores de carbapenemasas (n=58) produjeron metallo- β -lactamasas de tipo NDM (57) y VIM (9) donde en ocho aislados se detectó la coproducción de NDM y VIM. No se detectaron otras carbapenemasas investigadas como KPC, IMP y OXA-48. Un hallazgo novedoso fue la detección de la carbapenemasa VIM en aislados colonizantes intestinales la que se identificó solo en la especie de *E. coli* y constituye el primer hallazgo en Cuba. (Figura. III. 6).

Además, en 12 pacientes donde se observó colonización simultánea por diferentes especies, ocho de ellos (66,7%) mostraron un mecanismo de resistencia idéntico (producción de NDM).



Leyenda: **Producto de amplificación del gen *bla_{NDM}***. Línea MAK, Marcador de peso molecular; línea 1-5,7-24,26-28 producto de amplificación NDM; línea 6, resultado negativo; línea CN, control negativo NDM.

(a)



Leyenda: **Producto de amplificación del gen *bla_{NDM}***. Línea MAK, Marcador de peso molecular; línea 3,5,7,8,11,14,16,21,23 producto de amplificación VIM; línea 2,4,6,9,10,12,13,15,17, 18,19,20,22 resultado negativo; línea CN, control negativo VIM.

(b)

Figura III. 6. Perfil electroforético de la PCR para detección de metalo-β-lactamasas: (a) Producto de amplificación del gen *bla_{NDM}*;(b) Producto de amplificación del gen *bla_{VIM}*.

De acuerdo con los reportes de la vigilancia nacional en Cuba, la carbapenemasa de tipo KPC se detecta, por primera vez, en 2011^[20], posteriormente, se notifica un incremento acelerado de la carbapenemasa tipo NDM, como acontece en el hospital "Hermanos Ameijeiras" donde se desarrolla el presente estudio que acorde a su vigilancia local evidencia un aumento de metalo- β -lactamasa durante 2013, con un 5,9% de tipo NDM en comparación con 1,2% del tipo KPC^[21]. Por otro lado, debido a la presión selectiva que ejerce el uso de carbapenémicos, cada vez son más frecuentes los aislados doble productores de carbapenemasas^[17], este fenómeno también se demostró en el presente estudio, donde ocho aislados de *E. coli* co-produjeron NDM y VIM.

La carbapenemasa tipo VIM se describe, primero, en *P. aeruginosas* en Verona, Italia con una diseminación posterior a la familia *Enterobacterales* y una prevalencia global de 2% en *E. coli* ^[54]. Esta metalo- β -lactamasa se encuentra, principalmente, en el clon pandémico ST131 que está ampliamente diseminado en el país ^[91, 130]. Estudios de epidemiología molecular son necesarios para conocer los clones circulantes de *E. coli* en el Hospital "Hermanos Ameijeiras" para un mejor conocimiento de la epidemiología de carbapenemasas tipo VIM, así como desarrollar una vigilancia activa en *P. aeruginosas*, reservorio principal de esta enzima ^[54].

Un hallazgo interesante fue que, entre los pacientes con colonización simultánea, el 66,7% de ellos estuvieron co-colonizados por diferentes especies de *Enterobacterales* portadoras de NDM, lo que podría deberse a la transmisión de elementos genéticos móviles de resistencia entre diferentes especies de *Enterobacterales*.

El patrón de resistencia antimicrobiana de los aislados colonizantes del tracto gastrointestinal se muestra en la tabla III. 7, donde se observa resistencia elevada a todos los antibióticos incluida la colistina con un porcentaje de 25,9%, no obstante, esta junto a la amikacina y a la fosfomicina mostraron la mayor actividad in vitro. Como se puede observar, todos los aislados fueron resistentes a los carbapenémicos con 29,3% (n=17) con una CIM a meropenem de 8 μ g/mL, mientras que el resto mostró una CIM \geq 16 μ g/mL. *K. pneumoniae* (37,5%), *E. coli*

(10,5%) y *E. cloacae* (33,3%) mostraron una concentración inhibitoria mínima a colistina ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$.

Tabla III. 7. Resistencia antimicrobiana en *Enterobacterales* productores de carbapenemasas colonizantes del tracto gastrointestinal (n=58). Hospital "Hermanos Ameijeiras", noviembre 2021-febrero 2022.

Antibióticos	% resistencia				Total (n=58)
	<i>K. pneumoniae</i> (n=24)	<i>E. coli</i> (n=19)	<i>E. cloacae</i> (n=9)	Otros ¹ (n=6)	
ATM	87,5	84,2	66,7	66,7	81,0
IMP	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
MEM	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
GEN	91,7	42,1	88,9	100,0	75,9
AMK	62,5	31,6	55,6	100,0	55,2
CIP	95,8	94,7	88,9	83,3	93,1
FOS	79,2	0	77,8	83,3	50,0
SXT	100,0	84,2	88,9	83,3	91,4
TCG	87,5	36,8	66,7	66,7	65,5
CST ²	37,5	10,5	33,3	20,0	25,9

Leyenda: AMS, ampicilina-sulbactam; TZP, piperacilina-tazobactam; CAZ, ceftazidima; FEP, cefepime; ATM, aztreonam; GEN, gentamicina; AMK, amikacina; SXT, trimetropim-sulfametoxazol; CIP, ciprofloxacina; FOS, fosfomicina; MEM, meropenem; IMP, imipenem; CST, colistina; TGC, tigeciclina. 1 Otros: *K. ornithinolytica*, *K. aerogenes*, *K. oxytoca*, *C. koseri*, *C. freundii* y *M. morgani*. 2 No se muestra el porcentaje de resistencia para *M. morgani*, porque estas especies son intrínsecamente resistentes a la CST.

Un análisis imprescindible en términos de la epidemiología de la resistencia antimicrobiana es conocer la prevalencia de aislados MDR, XDR y PDR en servicios hospitalarios por su impacto en las políticas de usos de antibióticos y optimización de estos. En este acápite se hace un análisis comparativo de la MDR, XDR y PDR en aislados tanto causantes de infecciones como de los

colonizadores intestinales (Figura III.7). Se observó que EPC circulan con un perfil de XDR y PDR, también, en aislados colonizantes intestinales lo que genera una preocupación extrema por el riesgo de incremento de diseminación de estos de forma silente en el hospital y la comunidad, así como, por el riesgo de mayor incidencia de infecciones EPC sin casi o nulas opciones terapéuticas con aumento de la morbilidad y la mortalidad.

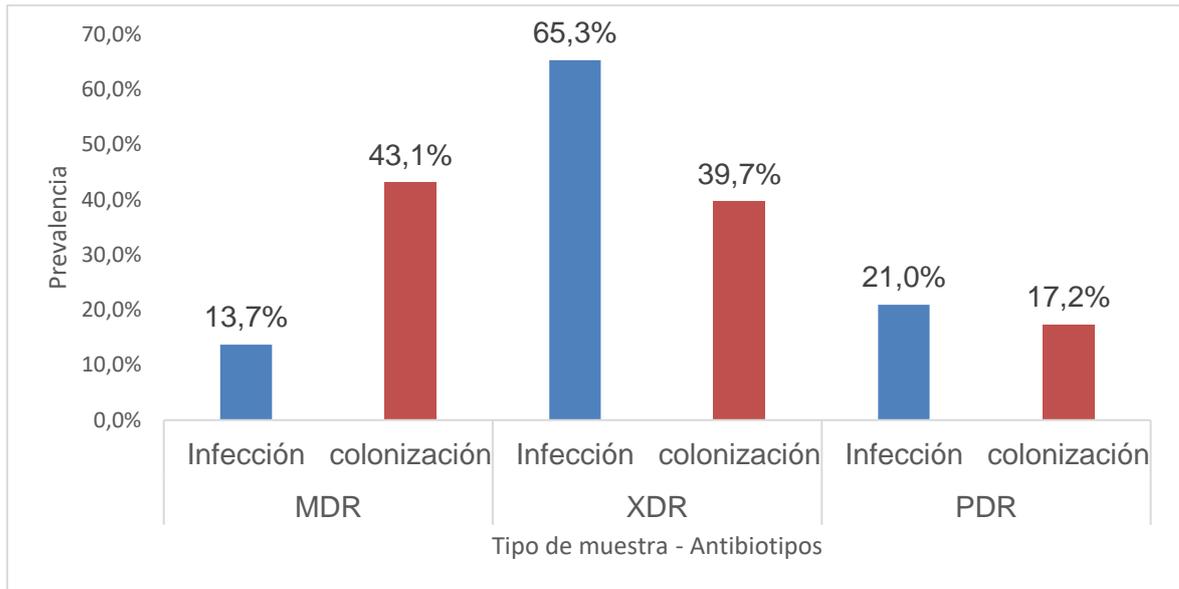


Figura III.7. Distribución de antibiotipos MDR, XDR y PDR de *Enterobacteriales* productores de carbapenemasas entre los pacientes infectados y portadores.

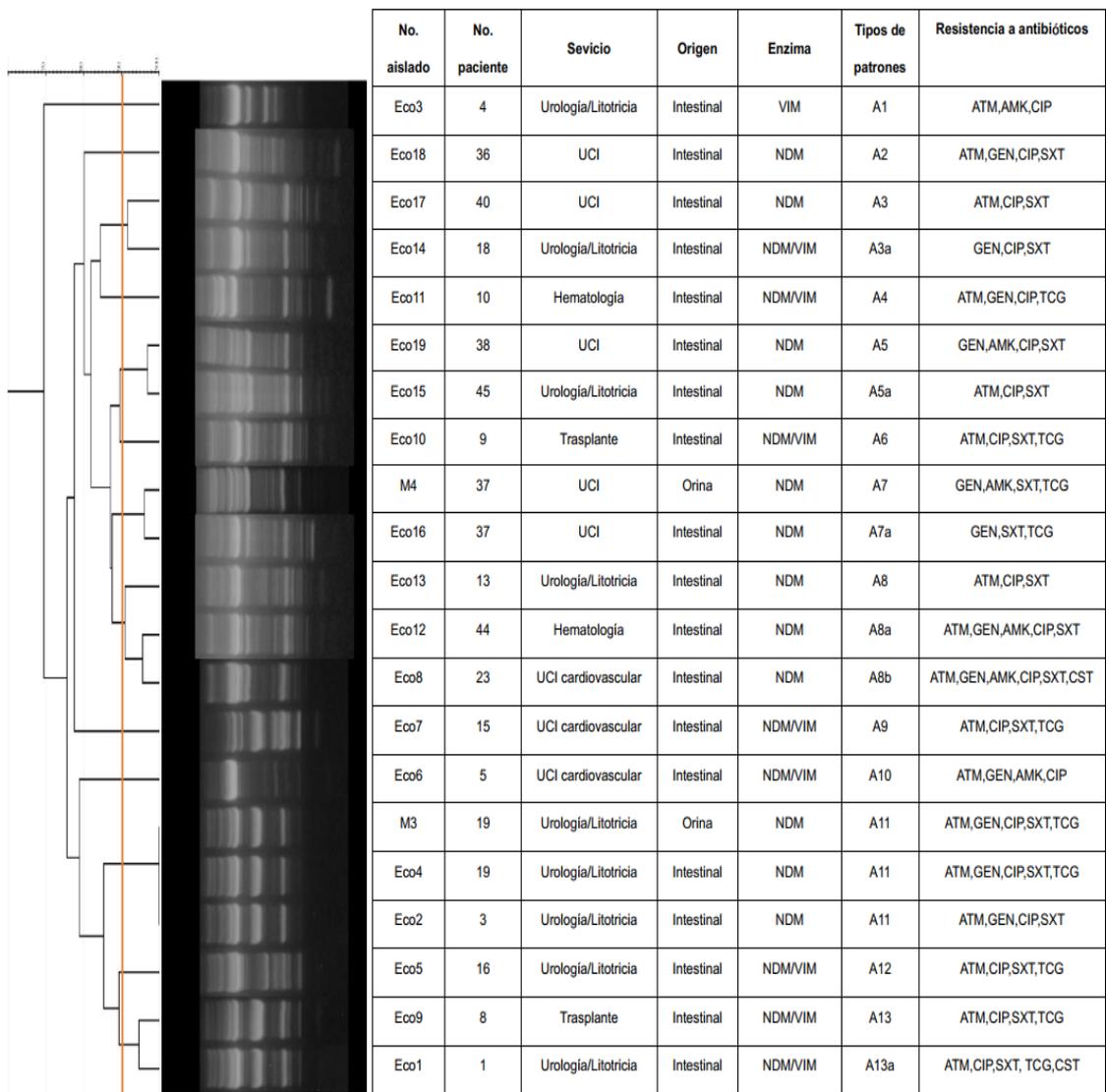
El presente estudio, también analizó la transmisión de EPC entre los pacientes ingresados en diferentes servicios del hospital que constituyó el primer estudio de epidemiología molecular entre aislados de EPC (*E. coli*, *K. pneumoniae* y *E. cloacae*) colonizantes del tracto gastrointestinal en Cuba.

Mediante el análisis de los patrones de ERIC-PCR, los 21 aislados de *E. coli* se clasificaron en 13 tipos de patrón-ERIC, incluyendo 16 clusters y siete monotipos (Figura III. 8. A). Los aislados clínicos extra-intestinales (M3 y M4) de dos pacientes fueron idénticos o estrechamente relacionados con sus aislados correspondientes del tracto gastrointestinal. Asimismo, de cinco patrones ERIC (A3, A5, A8, A11 y A13) derivaron variantes genéticas, los que mostraron un transmisión horizontal entre los pacientes y se diseminaron entre diferentes servicios.

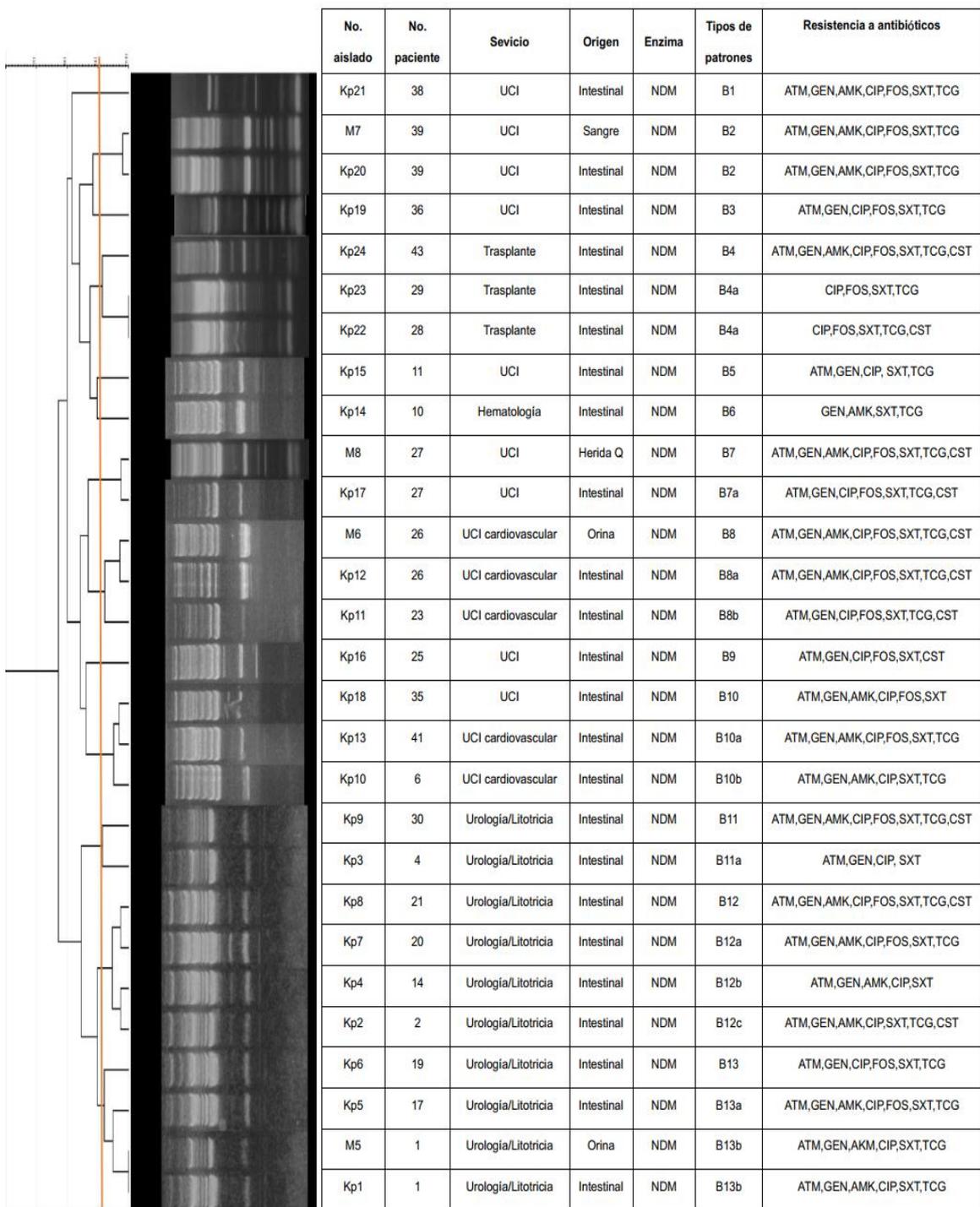
Los 28 aislados de *K. pneumoniae* se categorizaron en 12 tipos de patrón-ERIC, incluyendo 25 clusters y cinco monotipos (Figura III. 8. B). De los aislados clínicos extra-intestinales (M5, M6, M7, M8) de cuatro pacientes, dos mostraron patrones idénticos con sus respectivos aislados intestinales de los pacientes mientras dos mostraron un patrón estrechamente relacionado con su aislado intestinal. Seis patrones (B4, B8, B10, B11, B12 y B13) obtenidos de muestra intestinal mostraron variantes genéticas, los cuales se transmitieron entre diferentes pacientes, y el patrón B10 se diseminó en dos servicios hospitalarios.

Con relación a *E. cloacae* de los 11 aislados, se obtuvieron nueve tipos de patrones-ERIC, incluyendo siete clusters y siete monotipos (Figura III. 8. C); dos clones (C2 y C6) mostraron identidad genética de los aislados colonizantes intestinales y causantes de la infección (aislado extraintestinal) con el mismo patrón de resistencia antibiótico; todos los demás aislados intestinales pertenecían a distintos tipos genéticos.

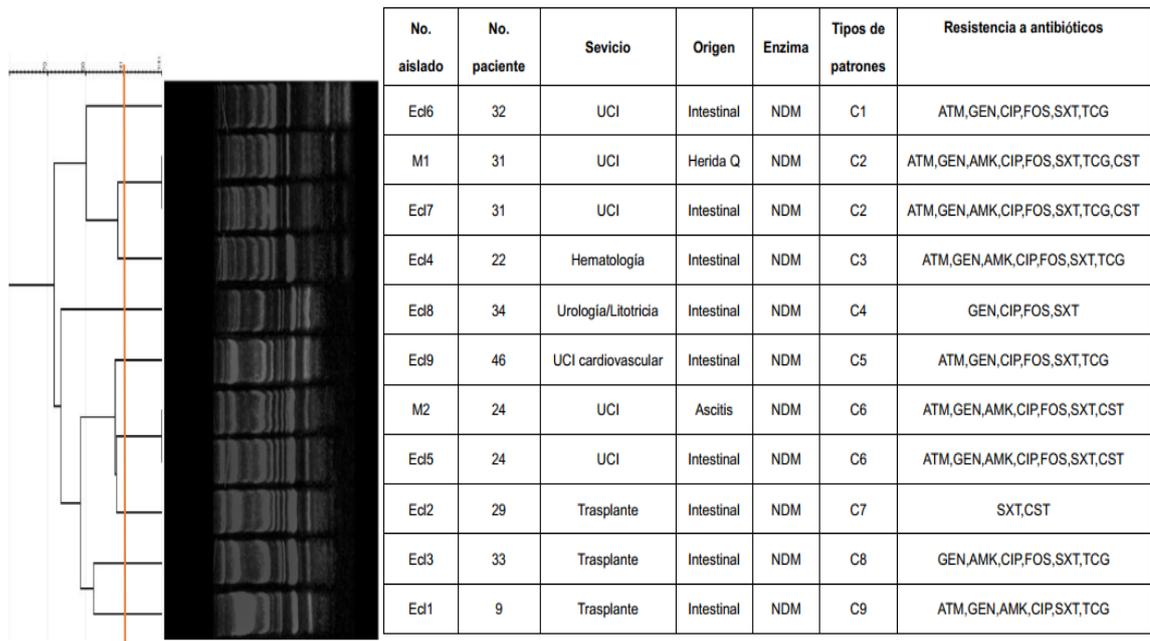
De los nueve pacientes con colonización intestinal adquirida en el hospital, referidos anteriormente, en cuatro de ellos con *K. pneumoniae* productora de NDM, cabe destacar que estos pacientes fueron colonizados posterior a la 48h de ingreso (colonización adquirida intra-hospitalaria) y hubo una relación clonal con los aislamientos de pacientes ingresados con anterioridad en mismo servicio, motivo por el cual, se pudiera considerar una transmisión entre paciente directa o por contaminación ambiental.



(A)



(B)



(C)

Figura III. 8. Dendrograma basado en ERIC-PCR. Patrones genéticos de 21 aislados de *E. coli* (A), 28 aislados de *K. pneumoniae* (B) y 11 aislados de *E. cloacae* (C) y su distribución por servicios y relación con antibiotipos. Hospital "Hermanos Ameijeiras", noviembre 2021-febrero 2022.

El estudio de epidemiología molecular mostró que en *E. coli* y *K. pneumoniae*, la mayoría de los aislados resistentes a carbapenémicos productores de carbapenemasas estuvieron relacionados clonalmente, lo que sugiere que la diseminación de estos aislados fue debido a una expansión clonal con la consiguiente ocurrencia de brotes de aislados colonizantes. Diferentes reportes internacionales evidencian la diseminación de EPC en instituciones de salud [87, 131]. En este sentido, es importante tener en cuenta el rol de la contaminación ambiental en la adquisición de EPC durante la admisión hospitalaria del paciente donde los sistemas de agua, como fregaderos y llaves, así como inodoros, juegan un papel importante como reservorios inanimados de estos microorganismos [10].

La prevalencia de colonización por EPC detectada pudiera justificar la frecuencia de estas especies portadoras de carbapenemasas causantes de infecciones notificadas en este hospital, así como el impacto epidemiológico local y nacional

teniendo en cuenta que es un hospital de tercer nivel con servicios de referencia nacional donde asisten pacientes de diferentes instituciones hospitalarias del país. Además, se observa una diseminación horizontal de la carbapenemasa metalo- β -lactamasa NDM y constituye el mecanismo prevalente tanto a nivel intraespecie como interespecie. Una situación epidemiológica diferente se detectó en *E. cloace*, donde no se encontró una diseminación clonal.

La diseminación de EPC en diferentes servicios del hospital "Hermanos Ameijeiras" constituye una alerta epidemiológica que demanda el fortalecimiento de las medidas de prevención y control de las infecciones, así como de un perfeccionamiento de la vigilancia microbiológica de bacilos gramnegativos en el hospital.

De acuerdo con los resultados del estudio de epidemiología molecular mediante ERIC-PCR, se consideraron ocho casos de infección que se desarrollaron a partir de la colonización intestinal, de las cuales cuatro (50,0%) fueron causadas por *K. pneumoniae*, dos (25,0%) por *E. coli* y dos (25,0%) por *E. cloacae*. Según la clasificación de infección, fueron infección del tracto urinario (n=3), infección de herida quirúrgica (n=3), infección del torrente sanguíneo (n=1) e infección intra-abdominal (n=1). El análisis univariado para los factores de riesgo de los pacientes con colonización y colonización-infección por EPC se asociaron con sonda urinaria (p=0,040), ventilación mecánica (p=0,044) y cirugía (p=0,040). (Tabla III. 8)

Tabla III. 8. Análisis univariado para los factores de riesgo de los pacientes con colonización y colonización-infección por *Enterobacterales* productores de carbapenemasas. Hospital "Hermanos Ameijeiras", noviembre 2021-febrero 2022.

Factores	Colonización- Infección (n=8)	Colonización (n=38)	RP (IC 95%)	p
Catéter Central	3 (37,5%)	10 (26,3%)	1,52 (0,42-5,47)	0,403
Sonda urinaria	8 (100%)	24 (63,2%)	1,58 (1,24-2,02)	0,040
Sonda nasogástrica	1 (12,5%)	3 (7,9%)	1,50 (0,24-9,32)	0,548
Ventilación mecánica	5 (62,5%)	9 (23,7%)	2,64 (1,21-5,78)	0,044
Cirugía	8 (100%)	24 (63,2%)	1,58 (1,24-2,02)	0,040

La colonización por EPC está estrechamente relacionada con la posterior infección [132]. Un meta-análisis (2016) muestra un riesgo global de 16,5% de infección por EPC entre los pacientes colonizados [133]. Este fenómeno también se observó en el presente estudio, en el que ocho casos de infección se desarrollaron a partir de la colonización intestinal.

Sobre los factores de riesgo asociados a la infección, en estudios previos, se citan varios como el ingreso en UCI, el uso de CVC, el trasplante reciente de órganos o células madre, la ventilación mecánica y la exposición a antibióticos de amplio espectro [134]. Sin embargo, hay pocos análisis sobre los factores de riesgo que favorecen las infecciones tras las colonizaciones. En el presente estudio, se encontró que el uso de sonda urinaria, el uso de ventilación mecánica y los

procedimientos quirúrgicos fueron los factores de riesgo adicionales de evolucionar a una infección a partir de la colonización por EPC.

2.1. Conclusión parcial del segundo estudio

El presente estudio da a conocer, por vez primera en Cuba la existencia del estado de portador fecal (colonización intestinal) de EPC en pacientes hospitalizados. Estos resultados constituyen una alerta sobre la portación oculta en pacientes de EPC, con transmisión horizontal del gen codificante de NDM y diseminación de aislados entre los servicios hospitalarios y entre pacientes de un mismo servicio y a la comunidad. Esto demanda el fortalecimiento de las medidas de prevención y control de las infecciones, así como de un perfeccionamiento de la vigilancia microbiológica y la implementación de los cultivos de vigilancia epidemiológica en este hospital y demás hospitales del país.

3. Tercer estudio: Competencia y desempeño de médicos de asistencia en diferentes servicios del Hospital "Hermanos Ameijeiras" sobre las infecciones por EPC, su manejo terapéutico, prevención y control, así como necesidad de aprendizaje.

La resistencia a los carbapenémicos entre los *Enterobacterales* se favorece por el uso inadecuado de los antimicrobianos en medicina, la falta de medidas de prevención y control de las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria, y el retraso en el diagnóstico microbiológico, entre otros^[33]. El manejo terapéutico preciso y oportuno es crucial en tanto la demora del mismo cuatricula la mortalidad de una infección severa por *Enterobacterales* ^[18]. Por tanto, el conocimiento adecuado, ya sea teórico o empírico, de los médicos de asistencia sobre el abordaje multidisciplinario de las infecciones por EPC impondrían un freno al desarrollo y diseminación de bacterias multirresistentes.

El presente estudio es el primer reporte en la literatura cubana sobre conocimientos de EPC en médicos de asistencia de un hospital en Cuba. Los hallazgos del mismo son una referencia teórico-práctica para el fortalecimiento de las políticas.

nacionales destinadas a frenar el desarrollo de la resistencia bacteriana y en especial de esta emergencia de EPC para las cuales son escasas las opciones terapéuticas en el país.

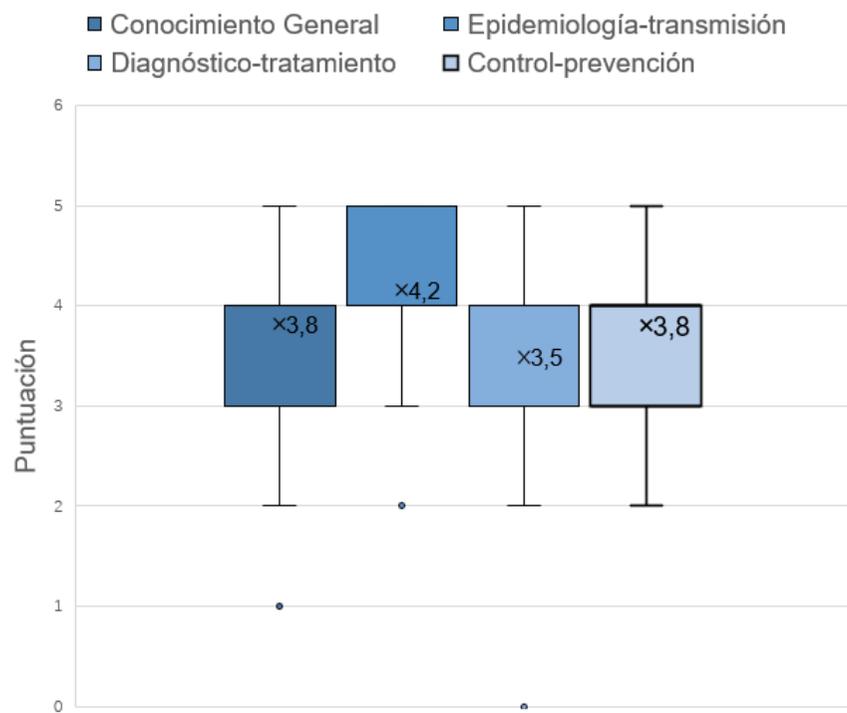
Un total de 70 médicos participaron en esta encuesta, 52,9% fueron médicos asistentes, y 47,1% fueron médicos residentes. La distribución de la edad de los médicos se situó en un rango de 29-72 años, media de $36,3 \pm 10,1$; Según la distribución de servicios hospitalarios, 20% de los médicos provinieron de Cuidados Intensivos, seguidos de Medicina Interna (17,1%), Trasplante (15,7%), Cirugía General (12,9%), Nefrología (12,9%), Hematología (11,4%), Urología/Litotricia (10,0%).

Los médicos obtuvieron calificaciones en el rango de 12-18 puntos. En tabla III.9, se muestra la distribución de las puntuaciones de conocimientos. La mayoría de los médicos 68,6% (48/70) tuvieron un nivel medio de conocimiento (puntuación 13-16). El 24,3% (17/70) de los médicos presentaban un nivel de conocimiento relativamente alto (puntuación ≥ 17). Los médicos asistentes presentaron un nivel de conocimiento medio-alto para ERC, sin embargo, no se observó diferencia significativa con los médicos residentes (modelo multivariado, $p=0,077$). Además, se observó que 58,6% (41/70) de los médicos tenían las experiencias del manejo clínico para EPC, los cuales también poseían un mejor conocimiento de EPC comparado con los médicos sin experiencia (modelo multivariado $p=0,039$).

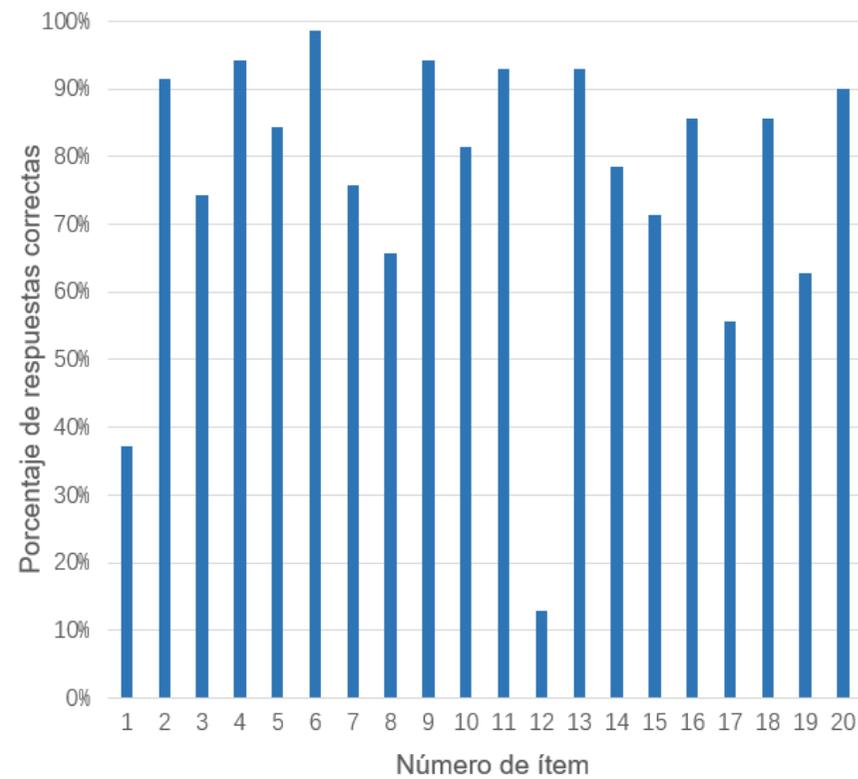
Tabla III. 9. Factores asociados al nivel de conocimiento de *Enterobacteriales* productores de carbapenemasas, n=70. Hospital "Hermanos Ameijeiras".

Variables	Nivel de conocimiento			Univariado	Multivariado
	Alto (n=17)	Medio (n=48)	Bajo (n=5)	p-valor	p-valor
Cargo ocupacional				0,017	0,077
Médico Residente	5 (29,4%)	23 (47,9%)	5 (100,0%)		
Médico Asistente	12(70,6%)	25 (52,1%)	0 (0,0%)		
Servicios					
Cuidados Críticos	5 (29,4%)	9 (18,8%)	0 (0,0%)	0,872	
Urología/Litotricia	1 (5,9%)	5 (10,4%)	1 (20,0%)	0,377	
Cirugía General	2 (11,8%)	7 (14,6%)	1 (20,0%)	0,289	
Hematología	0 (0,0%)	5 (10,4%)	2 (40,0%)	0,611	
Medicina Interna	2 (11,8%)	9 (18,8%)	1 (20,0%)	0,119	
Nefrología	3 (17,6%)	6 (12,5%)	0 (0,0%)	0,297	
Trasplante	4 (23,5%)	7 (14,6%)	0 (0,0%)		
Experiencia de manejo de EPC				0,01	0,039
Sí	14(82,4%)	26 (54,2%)	1 (20,0%)		
No	3 (17,6%)	22 (45,8%)	4 (80,0%)		

En la distribución de puntuaciones por aspectos de conocimiento (Figura III. 9. a) se observó que los médicos presentaron los mejores conocimientos en el ámbito de epidemiología-transmisión (el rango intercuartílico y la media de puntuación fueron más altas), sin embargo, en el aspecto de diagnóstico-tratamiento, estos valores fueron más bajos. Además, el ítem 1, 12 y 17 fueron las preguntas erróneas de alta frecuencia, con un porcentaje de respuesta correcta menor que 60%.(Figura III. 9. b)



(a)



(b)

Figura III. 9. Representación de la experticia de los médicos encuestados (n=70) del hospital "Hermanos Ameijeiras" sobre *Enterobacteriales* productores de carbapenemasas: (a) Distribución de puntuaciones por aspectos de conocimiento; (b) Porcentaje de respuestas correctas según preguntas realizadas.

Según las puntuaciones de diferentes aspectos del conocimiento, se identificó que la obtención de este no es sistemática, además, los errores de frecuencia elevada se presentaron en los siguientes conocimientos claves tales como la identificación de los EPC, la distinción entre la colonización y la infección, y el manejo de prevención y control, los cuales deben ser fortalecidos de manera sistemática. Para identificar los EPC, primero se debe precisar su definición. En la guía para el control de *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos (CDC, 2015) ^[121], se indica que los *Enterobacterales* cumplen un de las siguientes tres condiciones: a) resistencia a cualquier carbapenémico (imipenem, meropenem, doripenem, ertapenem); b) producción de carbapenemasas; c) si es resistencia intrínseca al imipenem (por ejemplo, *Morganella morganii*, *Proteus sp.*, *Providencia sp.*), deben ser resistentes a otros carbapenémicos (por ejemplo, meropenem, ertapenem, doripenem). En relación a la distinción de la infección y la colonización es un punto clave y difícil en la práctica clínica pues estas pueden ocurrir tanto en pacientes asintomáticos como en pacientes infectados por otro patógeno. Actualmente, debido a la controversia sobre la terapia de descolonización en pacientes colonizados por EPC, sobre este particular sólo se realizan intervenciones de prevención y control. Un meta-análisis (2016), muestra que la terapia de descolonización puede reducir la colonización durante el tratamiento, pero sus efectos a largo plazo no son significativos ^[135]; asimismo, existe el riesgo de inducir una resistencia bacteriana ^[136]. Por lo tanto, la utilización de antibióticos sin un diagnóstico bien definido y sin un respaldo microbiológico, no sólo conduce al fallo terapéutico, sino también al abuso de los antibióticos la que puede dar lugar a más bacterias resistentes. De igual manera, el manejo de prevención y control incorrecto también es una causa importante de diseminación de las bacterias resistentes. Por lo tanto, la necesidad de aumentar sistemáticamente los conocimientos relacionados con EPC por parte de los médicos es esencial. Además, el presente estudio reveló, mediante el análisis multivariado que el nivel de conocimientos está asociado a la experiencia de manejo de EPC. Es por ello que los médicos necesitan más oportunidades de intercambio académico y entrenamiento práctico. Sin embargo, un estudio similar en China reporta que existe una relación significativa entre el nivel de conocimiento de EPC y las

características demográficas del nivel de ciudad, el departamento de trabajo y experiencia de tratar la infección por EPC en los últimos seis meses ^[137].

En la figura III.10, se muestra la distribución en la práctica médica de los médicos en el tratamiento para EPC. El 97,1% de los médicos no conocían ninguna característica epidemiológica de EPC (tasa de infección por EPC, perfil de susceptibilidad antimicrobiana, el tipo de carbapenemasas predominante) en el hospital (Figura III. 10. a). En el ámbito de tratamiento de EPC, el tratamiento combinado se aceptó por la mayoría de los médicos (94.3%), el régimen de carbapenémico (CIM \leq 8 mg/L) más otro antibiótico activo y el régimen de combinación de dos antibióticos activos (no carbapenémicos) fueron más reconocidos, sin embargo, 90% de los médicos no conocían ninguno de los antibióticos nuevos para EPC (Figura III. 10. b y c).

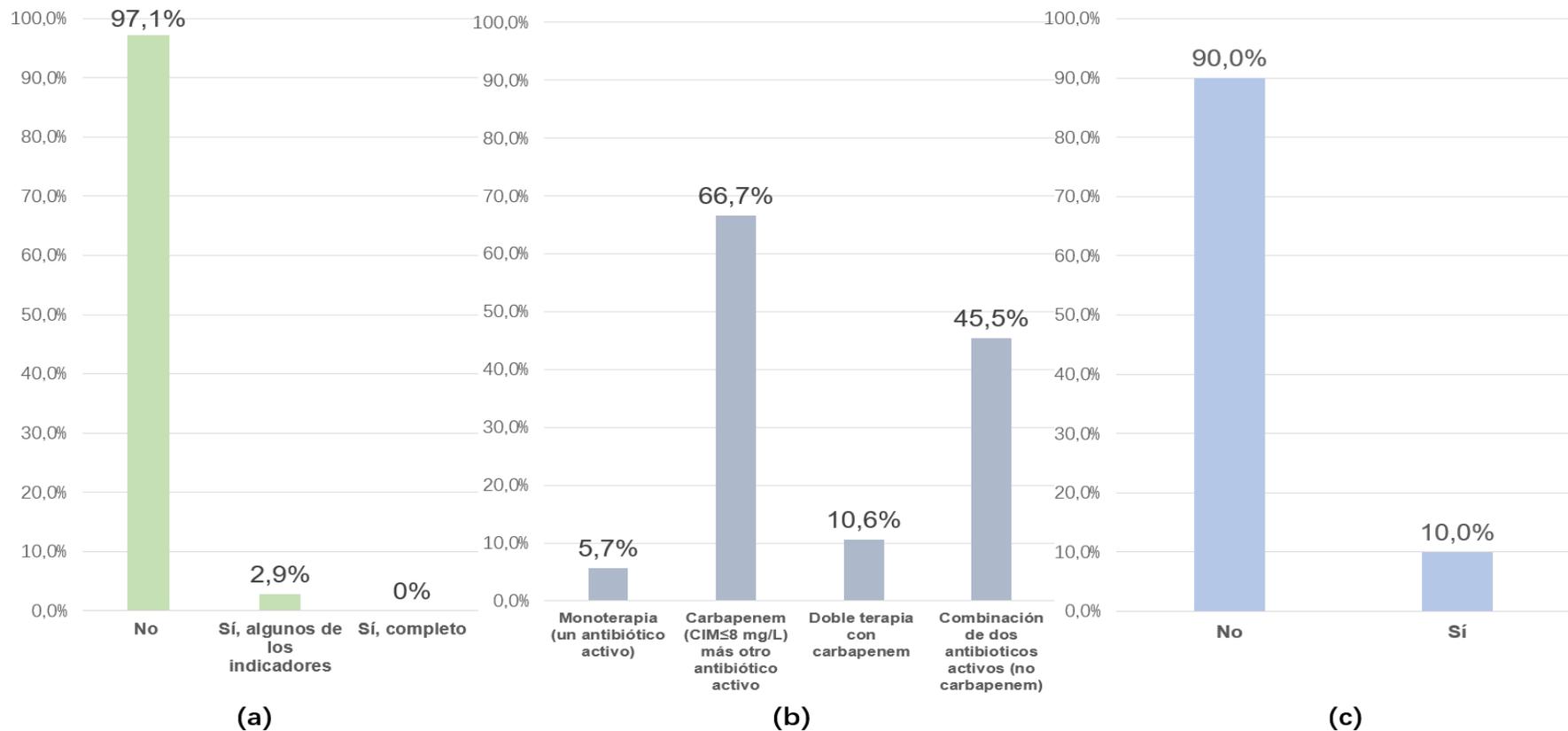


Figura III. 10. Experticia de los médicos encuestados (n=70), relacionado al tratamiento de las infecciones por *Enterobacteriales* productores de carbapenemasas (a) Conocimientos sobre las características epidemiológicas en el hospital; (b) Regímenes de antibióticos que usan; (c) Conocimientos sobre los nuevos antimicrobianos aprobados. (Eje horizontal: opiniones de los médicos; Eje vertical: proporción)

En el aspecto de prevención y control, las medidas más aceptadas para la prevención y el control de EPC fueron higiene de manos (92,9%), seguido por vigilancia activa (74,3%), limpieza ambiental (68,6%), precaución de contacto (52,9%) y descontaminación digestiva selectiva (14,3%) (Figura III.11.a). Asimismo, 71.4% de los médicos consideraron que contar con un protocolo de prevención y control de EPC era imprescindible (Figura III.11.b).

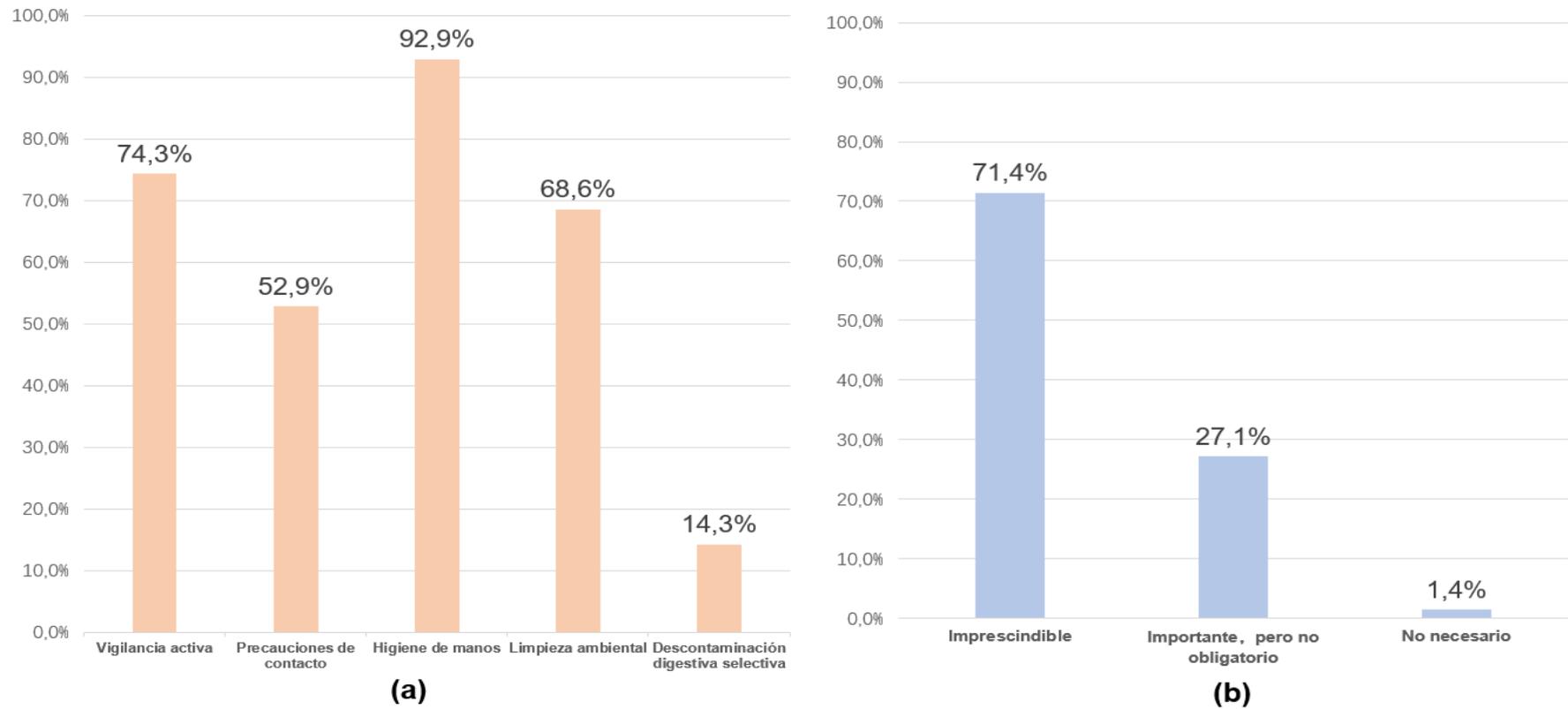


Figura III. 11. Experticia de los médicos encuestados (n=70) sobre prevención-control de *Enterobacteriales* productoras de carbapenemasas: (a) Medidas de prevención y control (b) Cumplimiento del protocolo para prevención y control. Hospital "Hermanos Ameijeiras". (Eje horizontal: opiniones de los medicos; Eje vertical: proporción).

Las experiencias prácticas en el manejo clínico de EPC, también, arrojaron brechas en el tratamiento que deben mejorarse. En primer lugar, más del 90% de los médicos ignoraron la importancia de la epidemiología de EPC en su hospital lo que podría influenciar a la eficacia del tratamiento empírico utilizado, así como en el control de la infección. Los expertos recomiendan que la selección de la antibioterapia empírica inicial debe basarse en el tipo predominante de patógenos y el patrón local de susceptibilidad, y se evitan aquellos antimicrobianos que presenten resistencia $\geq 10-15\%$ por lo que es necesario que los médicos prescriptores conozcan la sensibilidad a los diferentes antibióticos y otras características epidemiológicas básicas de patógenos en su hospital. En segundo lugar, todavía un bajo porcentaje de médicos (5,7%) reportaron la utilización de monoterapia para EPC, situación similar a la reportada entre médicos de China, predominando en los médicos con bajo nivel de conocimientos sobre EPC [137]. Sin embargo, la gran mayoría de los estudios y diferentes consensos de los expertos recomiendan la terapia combinada para los pacientes con infección por EPC [138, 139]. Un estudio de meta-análisis (2018) que evalúa el efecto de los tratamientos sobre los resultados de mortalidad en pacientes con infecciones graves por EPC, arrojó que la monoterapia conduce a un mayor riesgo de mortalidad donde los pacientes reciben sólo un antimicrobiano que tienen el doble de probabilidad de morir en comparación con los tratados con múltiples antibióticos activos [75]. En tercer lugar, se encontró que la gran mayoría de los médicos no conocían los antibióticos de última generación aprobados para EPC, lo que indica escasa actualización en esta área del conocimientos relacionados con EPC.

Por último, este estudio también mostró las prácticas de prevención y control de la infección en los médicos donde la higiene de manos fue bien reconocida por los médicos mientras otras medidas como la desinfección ambiental, la precaución de contacto y la vigilancia activa no fueron bien aceptadas (50%-75%), sin embargo son fundamentales para la prevención y control de *Enterobacterales* resistente a los carbapenémicos [140]. Esto podría sugerir que existe cierta dificultad en el acceso a una adecuada actualización en cuanto a las últimas guías para la prevención y control de la infección por EPC, mientras, resalta la necesidad de evaluar si es que existen limitaciones en la difusión de información de las políticas

de control de infecciones dentro el entorno hospitalario. Este hallazgo es concordante con un reporte en Perú, donde la única medida de prevención y control para EPC conocida por los médicos es el lavado de manos ^[141], y al contrario, la mayoría de los médicos de China considera que el cribado activo debe realizarse en los brotes asociados a la atención sanitaria ^[137].

La OMS recomienda, realizar el cribado activo lo antes posible a partir de un ingreso hospitalario o de una exposición de riesgo ^[10] pero en Cuba no se ha implementado estos cultivos de vigilancia epidemiológica para la detección precoz de los pacientes colonizados por estos aislados emergentes. Por tanto, es imprescindible establecer un protocolo nacional para prevención y control de los EPC, con optimización de recursos, que guíe a los médicos en la práctica de prevención y control.

La figura III.12 muestra las necesidades de aprendizaje de los médicos en relación con EPC, 78,6% de los médicos tuvieron la necesidad de conocimientos de microbiología y diagnóstico-tratamiento, también hubo un 50% de médicos que quisieron mejorar el conocimiento de epidemiología en relación con EPC. En las vías de adquisición de conocimientos, la mayoría (82,9%) seleccionó la forma autodidacta, seguido de cursos, maestrías y diplomados.

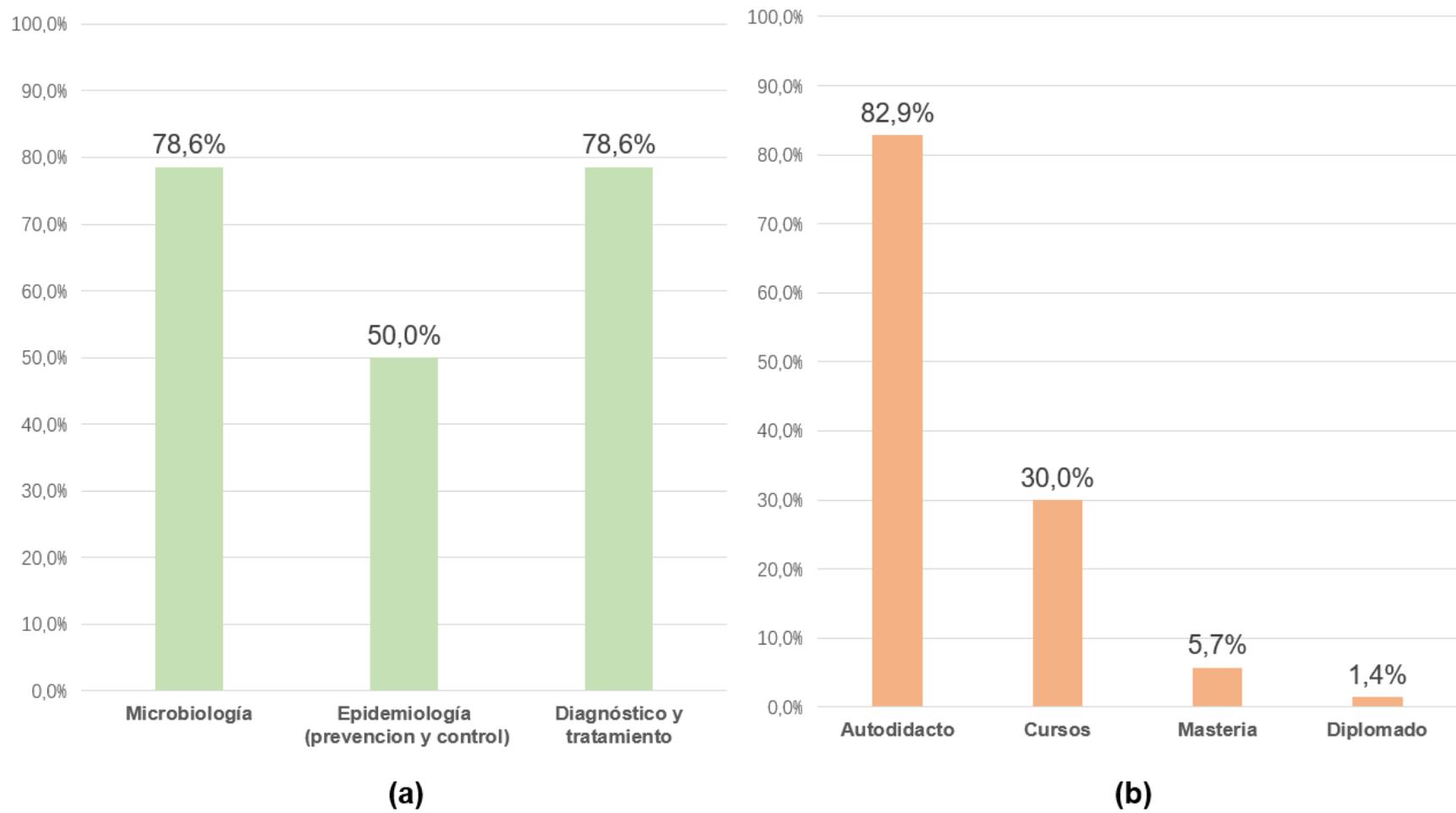


Figura III.12. Necesidades de aprendizaje de los médicos encuestados (n=70): (a) Conocimientos sobre diferentes aspectos en relación a *Enterobacteriales* productores de carbapenemasas (b) Vías de adquisición de los conocimientos. Hospital "Hermanos Ameijeiras". (Eje horizontal: opiniones de los medicos; Eje vertical: propoción).

Se detectaron brechas de conocimientos y variabilidad en las opiniones de los médicos de asistencia sobre el manejo terapéutico y medidas de prevención y control de infección por EPC. Por eso, esto demanda el desarrollo de un plan de capacitación sistemática para mejorar sus conocimientos sobre el tema. Los médicos muestran su deseo de superación en aspectos epidemiológicos, microbiológicos, de diagnóstico y tratamiento de infección por EPC, pero es preocupante que la mayoría desean adquirir los conocimientos de manera autodidacta; esta vía podría dar lugar a conocimientos fragmentados y a un desequilibrio cognitivo.

3.1. Conclusión parcial del tercer estudio

El incremento de las infecciones por EPC en el contexto de la pandemia impuso un reto natural a la capacidad de tratamiento y manejo de este tipo de casos para las instituciones sanitarias de Cuba y el resto del mundo. Esta investigación evidencia brecha de conocimiento y habilidad sobre EPC que de ser abordadas, mejorarían la asistencia médica. Además, los hallazgos del estudio facilitarán el fortalecimiento, de las normas, procedimientos y políticas terapéuticas para este patógeno mientras evidencia la necesidad de un plan de formación continua en la temática para mejorar el desempeño de los profesionales de la salud en el control de las infecciones por patógenos hospitalarios productores de carbapenemasas.

4. Consideraciones generales

La resistencia a los antimicrobianos es una amenaza cada vez mayor para la salud pública mundial. El aumento masivo del comercio y los movimientos migratorios como consecuencia de la globalización permiten que las bacterias no respeten fronteras y ocurra una diseminación mundial de clones multidrogresistentes.

Los resultados del presente estudio muestran la emergencia y la diseminación de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas de causa multifactorial principalmente de *K. pneumoniae* productora de NDM en el hospital "Hermanos Ameijeiras" de La Habana, Cuba, durante los últimos cinco años. El uso de esteroides y el uso previo de dos o más antibióticos, la exposición previa a cefalosporinas (de tercera o cuarta generación) o carbapenémicos son los factores independientes de una infección de *Enterobacterales* resistentes a los

carbapenémicos productores de carbapenemasas la que presentó una mayor mortalidad en comparación con *Enterobacterales* sensibles a estos, especialmente en la bacteriemia y la neumonía. Aunque el tratamiento de la infección por *Enterobacterales* productores de NDM es limitado, la terapia combinada es la de elección y los diferentes regímenes combinados pueden tener ventajas en diferentes tipos de infecciones, sobretodo, en las infecciones del torrente sanguíneo los regímenes basados en colistina mostraron una ventaja significativa. Asimismo, existe una tasa elevada de colonización intestinal de EPC entre los pacientes hospitalizados lo que constituye una alerta sobre la portación fecal oculta en pacientes hospitalizados, con transmisión horizontal del gen *bla_{NDM}* codificante de la carbapenemasa tipo NDM y diseminación de aislados entre los servicios hospitalarios y entre pacientes de un mismo servicio y riesgo para la comunidad. Esto resalta la importancia de la vigilancia epidemiológica y microbiológica y sus determinantes genéticos en *Enterobacterales* en los centros de atención médica. Ante el cambio en la distribución geográfica de las carbapenemasas, y la emergencia y diseminación de bacterias productoras de más de una de estas enzimas, urge el fortalecimiento de su diagnóstico microbiológico en el menor tiempo y la implementación efectiva y coordinada de programas de prevención y control específicos para las infecciones por EPC como orienta la OMS, así como de regulaciones para optimizar el uso de antimicrobianos. Existen brechas de conocimientos en los médicos de asistencia sobre el manejo clínico, de estas infecciones que imponen una actualización sobre los nuevos antimicrobianos y combinaciones de estos para el tratamiento eficaz de las infecciones por EPC. Un análisis integrado de datos clínicos y epidemiológicos, con base en estudios microbiológicos y en correspondencia con un buen desempeño de los médicos de asistencia permitirá un abordaje multidisciplinario para la contención de esta emergencia en el hospital "Hermanos Ameijeiras".

IV. CONCLUSIONES

IV. CONCLUSIONES

- *Enterobacterales* productores de carbapenemasas constituye una emergencia en el hospital “Hermanos Ameijeiras” donde la bacteremia y la neumonía cursan con mortalidad elevada favorecida por el uso de esteroides, uso de dos o más antibióticos, de cefalosporinas de tercera y cuarta generación y de carbapenémicos.
- Se evidencia el estado de portador fecal de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas en pacientes ingresados, principalmente en las UCIs donde el uso de sonda urinaria, ventilación mecánica y procedimientos quirúrgicos se asocian como factores de riesgo para la infección a partir de la colonización intestinal.
- *Enterobacterales* productores de carbapenemasas circulan con extremadrogorresistencia y pandrogorresistencia tanto en colonizantes intestinales como causantes de infecciones con predominio de *K. pneumoniae* productora de NDM, mientras la diseminación en diferentes especies y el hallazgo de la carbapenemasa tipo VIM constituye una alerta epidemiológica en el hospital.
- La terapia combinada con colistina en bacteremias y con tigeciclina en neumonía hospitalaria resultaron las estrategias terapéuticas más eficaces frente a las infecciones por *Enterobacterales* productores de carbapenemasas con reducción de la mortalidad.
- Una expansión clonal de *E. coli* y *K. pneumoniae* propicia brotes en los pacientes colonizados en el hospital “Hermanos Ameijeiras” con clones multirresistentes, transferencia horizontal del gen *bla*NDM y *bla*VIM y ocurrencia de infección tras colonización.
- Se detectaron brechas de conocimientos sobre el manejo clínico y estrategias de prevención y control de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas que atentan con el buen desempeño de médicos de asistencia para la contención de esta emergencia en el hospital "Hermanos Ameijeiras".

V. RECOMENDACIONES

V. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio multicéntrico nacional que permita una mejor comprensión del comportamiento clínico, epidemiológico y microbiológico de *Enterobacterales* productores de carbapenemasas en Cuba.
- Realizar la tipificación molecular mediante secuenciación de ADN para conocer variantes genéticas de carbapenemasas, clones responsables de su diseminación y evaluación de la relación genética entre aislados con un mejor poder discriminatorio.
- Desarrollar un plan de formación continua para mejorar el desempeño de los profesionales de la salud en el control de las infecciones por bacilos gramnegativos productores de carbapenemasas.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] . Worldwide country situation analysis: response to antimicrobial resistance: summary. Geneva. Switzerland: World Health Organization; 2015.
- [2] . Hendriksen RS, Munk P, Njage P, van Bunnik B, McNally L, Lukjancenko O, et al. Global monitoring of antimicrobial resistance based on metagenomics analyses of urban sewage. *Nature Communications* [Internet]. 2019[citado 13 Sep 2022];10(1):1124.Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08853-3>.
- [3] . Alós J-I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [Internet]. 2015[citado 6 Mar 2022];33(10):692-9.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X14003413>.
- [4] . Murray CJL, 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* [Internet]. 2022[citado 6 Mar 2022];399(10325):629-55.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673621027240>.
- [5] . Resistencia a los antimicrobianos Washington, D.C. United States: Pan American Health Organization; 2021 [updated Sep 2021;cited 2021 Citado Date Citado]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/resistencia-antimicrobianos>.
- [6] . Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care–associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *American Journal of Infection Control* [Internet]. 2008[citado 6 Mar 2022];36(5):309-32.Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2008.03.002>.
- [7] . Marta Hernández G, Patricia Ruiz G, Rafael Cantón M, Angela Gómez A, Francisco Javier Candel G, Jesús F, et al. Colonización por enterobacterias productoras de carbapenemasas durante el proyecto europeo r-gnosis: epidemiología, estructura poblacional y caracterización molecular;[Tesis Doctoral]: Universidad Complutense de Madrid; 2018. [citado 7 Mar 2022]Disponible en: <https://produccioncientifica.ucm.es/documentos/5d1ffb2f2999521e412de442>
- [8] . Paño Pardo JR, Villar SS, Ramos Ramos JC, Pintado V. Infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: Risk factors, clinical features and prognosis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [Internet]. 2014[citado 7 Mar 2022];32:41-8.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X14701739>.
- [9] . Weinstein RA, Stone PW, Pogorzelska M, Kunches L, Hirschhorn LR. Hospital Staffing and Health Care–Associated Infections: A Systematic Review of the Literature. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2008[citado 7 Mar 2022];47(7):937-44.Disponible en: <https://doi.org/10.1086/591696>.
- [10] . Guidelines for the prevention and control of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in health care facilities. Geneva. Switzerland: World Health Organization; 2017.
- [11] . Logan LK, Weinstein RA. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: The Impact and Evolution of a Global Menace. *The Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2017[citado 4 Feb 2021];215(suppl_1):S28-S36.Disponible en: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw282>.
- [12] . Jiménez Pearson MA, Galas M, Corso A, Hormazábal JC, Duarte Valderrama C, Salgado Marcano N, et al. Consenso latinoamericano para definir,

categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health [Internet]. 2019[citado 11 Mar 2022];43:e65.Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6705331/>.

[13]. 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 %J Revista chilena de infectología. [Internet]. 2017[citado 11 Mar 2022];34:476-84.Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182017000500476&nrm=iso.

[14]. Mannathoko N, Mosepele M, Gross R, Smith RM, Alby K, Glaser L, et al. Colonization with extended-spectrum cephalosporin-resistant *Enterobacterales* (ESCrE) and carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) in healthcare and community settings in Botswana: an antibiotic resistance in communities and hospitals (ARCH) study. International Journal of Infectious Diseases [Internet]. 2022[citado 15 Sep 2022];122:313-20.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S120197122200337X>.

[15]. Alerta epidemiológica, Primer hallazgo de carbapenemasas de tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM) en Latinoamérica (22 noviembre 2011. Washington, D.C. United States: Pan American Health Organization; 2011.

[16]. Actualización Epidemiológica, Carbapenemasas tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM) (7 marzo 2014). Washington, D.C. United States: Pan American Health Organization; 2014.

[17]. Alerta Epidemiológica: Emergencia e incremento de nuevas combinaciones de carbapenemasas en *Enterobacterales* en Latinoamérica y el Caribe. Washington, DC. United States: Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud.; 2021.

[18]. Lodise T, Berger A, Altincatal A, Wang R, Bhagnani T, Gillard P, et al. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) or Delayed Appropriate Therapy (DAT)—Does One Affect Outcomes More Than the Other Among Patients With Serious Infections Due to *Enterobacteriaceae*? Open Forum Infectious Diseases [Internet]. 2017[citado 27 Abr 2022];4(Suppl 1):S14-S.Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5632073/>.

[19]. Magiorakos AP, Burns K, Rodríguez Baño J, Borg M, Daikos G, Dumpis U, et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial Resistance & Infection Control [Internet]. 2017;6(1):113.Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0259-z>.

[20]. Quiñones D. Alerta epidemiológica: emergencia de carbapenemasas tipo KPC y NDM-1 en Cuba. BOLIPK [Internet]. 2014[citado 18 Mar 2022];24(09):64.Disponible en: <https://files.sld.cu/ipk/files/2014/03/bol09-14.pdf>.

[21]. Suárez Trueba B, Bustamante Pérez Y, Hart Casares M, Romero García MM, González Maestrey A, Martínez Batista ML. Caracterización de aislamientos intrahospitalarios de *Klebsiella pneumoniae* en un hospital terciario. Revista Cubana de medicina [Internet]. 2015[citado 4 Abr 2022];54(4):0-.Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232015000400006&lng=es&tlng=es.

- [22] . Implementation manual to prevent and control the spread of carbapenem-resistant organisms at the national and health care facility level: interim practical manual supporting implementation of the Guidelines for the prevention and control of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in health care facilities. Geneva: World Health Organization; 2019.
- [23] . Ruiz Carrascoso G. Características microbiológicas y clínico-epidemiológicas de enterobacterias productoras de carbapenemasa oxa-48 en el contexto de un brote hospitalario. Madrid, España 2016. [citado 11 Sep 2021] Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/40124/>
- [24] . López González L. Características epidemiológicas y clínico-microbiológicas de las enterobacterias productoras de carbapenemasa en un hospital de tercer nivel; [Tesis doctoral]: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID; 2019. [citado 14 Jul 2020] Disponible en: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/688655/lopez_gonzalez_laura.pdf?sequence=1
- [25] . Lopardo HA, Predari SC, Vay C. Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología Buenos Aires, Argentina: Asociación Argentina de Microbiología; 2016.
- [26] . Kolenda R, Burdukiewicz M, Schierack P. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic E. coli. [Internet]. 2015 [citado 23 Oct 2020];5. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2015.00023>.
- [27] . Lee C-R, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. [Internet]. 2016 [citado 11 Oct 2020];7. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.00895>.
- [28] . Chen C-J, Lu P-L, Jian S-H, Fu H-L, Huang P-H, Chang C-Y. Molecular Epidemiology, Risk Factors and Clinical Outcomes of Carbapenem-Nonsusceptible *Enterobacter cloacae* Complex Infections in a Taiwan University Hospital. Pathogens [Internet]. 2022 [citado 4 Abr 2022];11(2):151. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-0817/11/2/151>.
- [29] . Zhu Q, Chen C, Ge Z, Zang F, Yang Y, Zhang Y, et al. A seven-year surveillance of epidemiological trends of *Serratia marcescens* with different infection types in a tertiary hospital in China. Research Square [Internet]. 2022 [citado 20 Ene 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1380507/v2>.
- [30] . O'Hara CM, Brenner FW, Miller JM. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. Clinical microbiology reviews [Internet]. 2000 [citado 4 Jun 2021];13(4):534-46.
- [31] . Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Internet]. 2009 [citado 19 Nov 2019];27(1):44-52. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X08000177>.
- [32] . Gastelo Acosta R, Maguiña Vargas C. Mecanismos de resistencia bacteriana. Diagnóstico [Internet]. 2020 [citado 11 Dic 2020];57(2):82-6. Disponible en: <http://142.44.242.51/index.php/diagnostico/article/view/82>.

- [33] . Yu H, Han X, Quiñones Pérez D. La humanidad enfrenta un desastre: la resistencia antimicrobiana. Revista Habanera de Ciencias Médicas [Internet]. 2021[citado 20 Jun 2021];20(3). Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/3850>.
- [34] . Lepe JA, Martínez-Martínez L. Mecanismos de resistencia en bacterias gramnegativas. Medicina Intensiva [Internet]. 2022[citado 12 Ene 2022];46(7):392-402. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0210569122000341>.
- [35] . Hammoudi Halat D, Ayoub Moubareck C. The Current Burden of Carbapenemases: Review of Significant Properties and Dissemination among Gram-Negative Bacteria. Antibiotics (Basel, Switzerland) [Internet]. 2020[citado 8 Jun 2021];9(4):186. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/9/4/186>.
- [36] . Lutgring JD, Limbago BM. The Problem of Carbapenemase-Producing-Carbapenem-Resistant-*Enterobacteriaceae* Detection. [Internet]. 2016[citado 11 Dic 2021];54(3):529-34. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/JCM.02771-15>.
- [37] . Akhtar A, Fatima N, Khan HM. Beta-Lactamases and Their Classification: An Overview. In: Shahid M, Singh A, Sami H, editors. Beta-Lactam Resistance in Gram-Negative Bacteria: Threats and Challenges. Singapore: Springer Nature Singapore; 2022. p. 25-33.
- [38] . Rolain JM, Parola P, Cornaglia G. New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemic? Clinical Microbiology and Infection [Internet]. 2010[citado 5 May 2021];16(12):1699-701. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03385.x>.
- [39] . 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 Chilena Infectol [Internet]. 2017[citado 30 Nov 2018];34(5):476-84. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182017000500476&nrm=iso.
- [40] . De la Lastra V, Ulloa MT, Pinto M, Vidal M, Silva F. Serinocarbapenemasas de clase A en enterobacterias. Rev Hosp Clin Univ Chile [Internet]. 2010[citado 9 Aug 2019];21:232-7. Disponible en: https://www.redclinica.cl/Portals/0/Users/014/14/14/serinocarbapenesas_clase_a.pdf.
- [41] . Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Internet]. 2011[citado 8 Aug 2019];29(7):524-34. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X11001546>.
- [42] . Jeon JH, Lee JH, Lee JJ, Park KS, Karim AM, Lee C-R, et al. Structural Basis for Carbapenem-Hydrolyzing Mechanisms of Carbapenemases Conferring Antibiotic Resistance. Int J Mol Sci [Internet]. 2015[citado 12 Ene 2022];16(5):9654-92. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/16/5/9654>.
- [43] . Pitout JDD, Peirano G, Kock MM, Strydom K-A, Matsumura Y. The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases. Clinical microbiology reviews [Internet]. 2019[citado 9 May 2021];33(1):e00102-19. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/CMR.00102-19>.

- [44] . Calvo J, Cantón R, Fernández Cuenca F, Mirelis B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. In: Navarro F, Cercenado E, Cantón R, editors. Procedimientos en Microbiología Clínica. 4. España: Seimc; 2011. p. 1-54.
- [45] . Nicola F, Nievas J, Smayevsky J. Evaluación de diversos métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas KPC en *Klebsiella pneumoniae*. Revista Argentina de Microbiología [Internet]. 2012[citado 18 Mar 2019];44(4):290-302.Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=213025174010>.
- [46] . Wareham D W, Abdul Momin M H. Rapid Detection of Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: Evaluation of the Resist-3 O.K.N. (OXA-48, KPC, NDM) Lateral Flow Multiplexed Assay. J Clin Microbiol [Internet]. 2017[citado 18 Mar 2019];55(4):1223-25.Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28151407>.
- [47] . March Rosselló G. Métodos rápidos para la detección de la resistencia bacteriana a antibióticos. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2017[citado 28 de Junio 2019];35(3):182-8.Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016.12.005>.
- [48] . Van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Virulence [Internet]. 2017[citado 3 May 2021];8(4):460-9.Disponible en: <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1222343>.
- [49] . Rada AM, Hernández-Gómez C, Restrepo E, Villegas MV. Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia, 2001-2016. Biomédica [Internet]. 2019[citado 14 Ene 2022];39(0):199-220.Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/4351>.
- [50] . Touati A, Mairi A. Epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacterales* in the Middle East: a systematic review. Expert Review of Anti-infective Therapy [Internet]. 2020[citado 6 Jul 2021];18(3):241-50.Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1729126>.
- [51] . Zhang X, Chen D, Xu G, Huang W, Wang X. Molecular epidemiology and drug resistant mechanism in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from pediatric patients in Shanghai, China. PLOS ONE [Internet]. 2018[citado 7 Ago 2021];13(3):e0194000.Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194000>.
- [52] . Galani I, Karaikos I, Karantani I, Papoutsaki V, Maraki S, Papaioannou V, et al. Epidemiology and resistance phenotypes of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece, 2014 to 2016. Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin [Internet]. 2018[citado 8 Ago 2021];23(31).Disponible en: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.30.1700775>.
- [53] . Soria Segarra CG. Caracterización clínica, epidemiológica y factores de riesgo para la infección/colonización por *Enterobacterales* productores de carbapenemasa;[info:eu-repo/semantics/doctoralThesis]: Universidad de Granada; 2021. [citado 20 Ene 2022]Disponible en: <http://hdl.handle.net/10481/71419>
- [54] . Peirano G, Chen L, Nobrega D, Finn TJ, Kreiswirth BN, DeVinney R, et al. Genomic Epidemiology of Global Carbapenemase-Producing *Escherichia coli*, 2015-2017. Emerg Infect Dis [Internet]. 2022;28(5):924-31.Disponible en: 14 Oct 2022.

- [55]. Pérez I A, García C P, Poggi M H, Braun J S, Castillo V C, Román JC, et al. Presencia de metalo- β -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem. Revista médica de Chile [Internet]. 2008[citado 7 Jul 2021];136:423-32.Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872008000400002&nrm=iso.
- [56]. Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD, Docquier J-D, et al. Novel Acquired Metallo- β -Lactamase Gene, blaSIM-1, in a Class 1 Integron from *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates from Korea. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [Internet]. 2005[citado 8 Jul 2021];49(11):4485-91.Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.49.11.4485-4491.2005>.
- [57]. Pascual IP, Santiago ADd, Serrano AM. Infecciones por bacilos gramnegativos productores de carbapenemasas. Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado [Internet]. 2022[citado 1 Sep 2022];13(51):2992-3001.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541222000609>.
- [58]. Kizny Gordon A, Phan HTT, Lipworth SI, Cheong E, Gottlieb T, George S, et al. Genomic dynamics of species and mobile genetic elements in a prolonged blaIMP-4-associated carbapenemase outbreak in an Australian hospital. Journal of Antimicrobial Chemotherapy [Internet]. 2020[citado 10 Sep 2022];75(4):873-82.Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jac/dkz526>.
- [59]. Zhang Y, Wang X, Wang Q, Chen H, Li H, Wang S, et al. Emergence of Tigecycline Nonsusceptible and IMP-4 Carbapenemase-Producing K2-ST65 Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in China. Microbiology Spectrum [Internet]. 2021[citado 7 Ago 2021];9(2):e01305-21.Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/Spectrum.01305-21>.
- [60]. Pacheco H, Grace A, Chamorro M, Lisbeth C. Valoración del antibiograma de cepas productoras de Carbapenemasas en pacientes hospitalizados del Hospital de Especialidades Fuerzas Armadas N°1. durante el período 2015-2018;[Tesis de licenciado]. Quito: Universidad Central de Ecuador 2019. [citado 9 Sep 2021]Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18651>
- [61]. Liliana G-G, Armindo P-M, Jose B-G, Christy V, Jessica V, Messaria MG, et al. Detection of carbapenemase-producing bacteria in a public healthcare center from Venezuela. The Journal of Infection in Developing Countries [Internet]. 2020[citado 15 Ene 2022];15(01).Disponible en: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/33571159>.
- [62]. Kazmierczak KM, Karlowsky JA, Jonge BLMd, Stone GG, Sahm DF. Epidemiology of Carbapenem Resistance Determinants Identified in Meropenem-Nonsusceptible *Enterobacteriales* Collected as Part of a Global Surveillance Program, 2012 to 2017. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [Internet]. 2021[citado 4 Abr 2022];65(7):e02000-20.Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.02000-20>.
- [63]. Rada AM, Correa A, Restrepo E, Capataz C. *Escherichia coli* ST471 Producing VIM-4 Metallo- β -Lactamase in Colombia. Microbial Drug Resistance [Internet]. 2022[citado 5 May 2022];28(3):288-92.Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/mdr.2021.0031>.
- [64]. Wu W, Feng Y, Tang G, Qiao F, McNally A, Zong Z. NDM Metallo- β -Lactamases and Their Bacterial Producers in Health Care Settings. Clinical microbiology reviews [Internet]. 2019[citado 5 Dic 2020];32(2):e00115-18.Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/CMR.00115-18>.

- [65]. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Eurosurveillance* [Internet]. 2015[citado 11 Nov 2020];20(45):30062. Disponible en: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2015.20.45.30062>.
- [66]. Cantos E, Aracil A, Bautista B, Ortega V, Lara A, Saez N, et al. The Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Population Is Distinct and More Clonal than the Carbapenem-Susceptible Population. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [Internet]. 2017[citado 22 Oct 2018];61(4):1-5. Disponible en: <https://aac.asm.org/content/aac/61/4/e02520-16.full.pdf>.
- [67]. Quiñones D, Carvajal I, Perez Y, Hart M, Perez J, Garcia S, et al. High prevalence of bla OXA-23 in *Acinetobacter* spp. and detection of bla NDM-1 in *A. soli* in Cuba: report from National Surveillance Program (2010-2012). *New microbes and new infections* [Internet]. 2015[citado 12 Dic 2018];7(3):52-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/PMC4511621/>.
- [68]. Lee C-R, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2016[citado 1 Nov 2018];7(895):1-30. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.00895>.
- [69]. Tompkins K, van Duin D. Treatment for carbapenem-resistant *Enterobacteriales* infections: recent advances and future directions. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [Internet]. 2021[citado 19 Sep 2022];40(10):2053-68. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04296-1>.
- [70]. Walther-Rasmussen J, Høiby N. OXA-type carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Internet]. 2006[citado 5 Ago 2020];57(3):373-83. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jac/dki482>.
- [71]. Tian J, Zhang G, Ju Y, Tang N, Li J, Jia R, et al. Five novel carbapenem-hydrolysing OXA-type β -lactamase groups are intrinsic in *Acinetobacter* spp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Internet]. 2018[citado 9 Abr 2022];73(12):3279-84. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jac/dky359>.
- [72]. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Internet]. 2012[citado 9 Dic 2019];67(7):1597-606. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jac/dks121>.
- [73]. Morales-Moreno A, Ballena-López JC, Sandoval-Ahumada R, Silva-Caso W, Pérez-Lazo G. First Clinical Cases of OXA-48-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Peru *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo* [Internet]. 2021[citado 7 Jun 2022];14:379-82. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2227-47312021000400021&nrm=iso.
- [74]. Tamma PD, Aitken SL, Bonomo RA, Mathers AJ, van Duin D, Clancy CJ. Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of Extended-Spectrum β -lactamase Producing *Enterobacteriales* (ESBL-E), Carbapenem-Resistant *Enterobacteriales* (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with Difficult-to-Treat Resistance (DTR-*P. aeruginosa*). *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2020[citado 19 Sep 2022];72(7):e169-e83. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1478>.

- [75] . Martin A, Fahrbach K, Zhao Q, Lodise T. Association Between Carbapenem Resistance and Mortality Among Adult, Hospitalized Patients With Serious Infections Due to *Enterobacteriaceae*: Results of a Systematic Literature Review and Meta-analysis. Open Forum Infectious Diseases [Internet]. 2018[citado 20 ene 2022];5(7). Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy150>.
- [76] . Aguilera-Alonso D, Escosa-García L, Goycochea-Valdivia WA, Soler-Palacín P, Saavedra-Lozano J, Rodrigo C, et al. Position statement of the Spanish Association of Pediatrics-Spanish Society of Pediatric Infectology on the treatment of multidrug-resistant bacterial infections. Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica [Internet]. 2020[citado 1 Sep 2022];33(1):7-18. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.35366/92381>.
- [77] . Caravaca Fontán F, Jiménez S, Marcén Letosa R, Fernández Rodríguez A, Rodríguez Navarro C. Ceftazidima-avibactam en el tratamiento de infecciones urinarias por *Klebsiella* productora de carbapenemasa en trasplante renal. Nefrología [Internet]. 2015[citado 27 May 2019];35(4):412-3. Disponible en: <https://www.revistanefrologia.com/es-ceftazidima-avibactam-el-tratamiento-infecciones-urinarias-articulo-S0211699515000703ER>.
- [78] . Torres Pliego E, Delgado Mejía E, Gil Alonso L, Perriñez Párraga L. Primer caso de administración de ceftazidima/avibactam en hospitalización a domicilio. Bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* BLEE multirresistente. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Internet]. 2017[citado 27 May 2019];35(5):322-3. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-primer-caso-administracion-ceftazidima-avibactam-hospitalizacion-S0213005X16302567ER>.
- [79] . Durán L. Resistencia antimicrobiana e implicancias para el manejo de infecciones del tracto urinario. Revista Médica Clínica Las Condes [Internet]. 2018[citado 27 May 2019];29(2):213-21. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864018300294>.
- [80] . Sader HS, Carvalhaes CG, Arends SJR, Castanheira M, Mendes RE. Aztreonam/avibactam activity against clinical isolates of *Enterobacteriales* collected in Europe, Asia and Latin America in 2019. The Journal of antimicrobial chemotherapy [Internet]. 2021[citado 28 feb 2022];76(3):659-66. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33276387/>.
- [81] . Chalbaud A, Redondo C, Pino Z, Alonso G. Genotipificación bacteriana y Epidemiología molecular de las infecciones bacterianas. Memorias del Instituto de Biología Experimental [Internet]. 2012[citado 12 Sep 2022];6:41-4. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Guillermina-Alonso/publication/235990702_Genotipificacion_bacteriana_y_Epidemiologia_Molecular_de_las_infecciones_bacterianas/links/0deec51545e215b74c000000/Genotipificacion-bacteriana-y-Epidemiologia-Molecular-de-las-infecciones-bacterianas.pdf.
- [82] . Fernández-Cuenca F. Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Internet]. 2004[citado 12 Sep 2022];22(6):355-60. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X04731080>.
- [83] . CDC/NHSN surveillance definitions for specific types of infections. Atlanta. United States: Centers for Disease Control and Prevention; 2014.

- [84] . Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [Internet]. 2011[citado 14 ene 2022];70(1):119-23. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889310005559>.
- [85] . Simner PJ, Bergman Y, Trejo M, Roberts AA, Marayan R, Tekle T, et al. Two-Site Evaluation of the Colistin Broth Disk Elution Test To Determine Colistin In Vitro Activity against Gram-Negative Bacilli. [Internet]. 2019[citado 10 Sep 2022];57(2):e01163-18. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/JCM.01163-18>.
- [86] . López-Ramírez KL, Díaz-Maldonado KC, Vergara Espinoza MA, Santamaría-Veliz O, Serquén-López LM, Canelo Olinda B, et al. Patrón de clonalidad mediante ERIC-PCR y REP-PCR de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido, aisladas de pacientes con infección urinaria intrahospitalaria. Hospital Regional Lambayeque, Perú. *Horizonte Médico (Lima)* [Internet]. 2018[citado 4 Jul 2022];18:11-8. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2018000200003&nrm=iso.
- [87] . Moosavian M, Emam N. The first report of emerging mobilized colistin-resistance (mcr) genes and ERIC-PCR typing in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in southwest Iran. *Infection and drug resistance* [Internet]. 2019[citado 5 Jun 2022];12:1001-10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6500874/>.
- [88] . Castanheira M, Deshpande LM, Mendes RE, Canton R, Sader HS, Jones RN. Variations in the Occurrence of Resistance Phenotypes and Carbapenemase Genes Among *Enterobacteriaceae* Isolates in 20 Years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Open Forum Infectious Diseases* [Internet]. 2019[citado 20 Sep 2021];6(Supplement_1):S23-S33. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy347>.
- [89] . Alerta Epidemiológica: Emergencia de *Enterobacterales* doble productores de carbapenemasas. Buenos Aires. Argentina: Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr. Carlos G. Malbrán; 2021. Report No.: Boletín informativo No. 4. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/2021/04/alerta-epidemiologica-Enterobacterales-doble-productores-de-carbapenemasas/>.
- [90] . Binsker U, Käsbohrer A, Hammerl JA. Global colistin use: a review of the emergence of resistant *Enterobacterales* and the impact on their genetic basis. *FEMS Microbiology Reviews* [Internet]. 2021[citado 12 Abr 2022];46(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1093/femsre/ruab049>.
- [91] . Paitan Y. Current Trends in Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli*. In: Frankel G, Ron EZ, editors. *Escherichia coli*, a Versatile Pathogen. Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 181-211.
- [92] . Huang L, Hu YY, Zhang R. Prevalence of fosfomicin resistance and plasmid-mediated fosfomicin-modifying enzymes among carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in Zhejiang, China. [Internet]. 2017[citado 5 Jun 2022];66(9):1332-4. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000578>.
- [93] . Süzük Yıldız S, Kaşkatepe B, Şimşek H, Sarıgüzel FM. High rate of colistin and fosfomicin resistance among carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Turkey %J *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. [Internet].

- 2019[citado 4 Mar 2022];66(1):103-12.Disponible en: <https://akjournals.com/view/journals/030/66/1/article-p103.xml>.
- [94] . Yaghoubi S, Zekiy AO, Krutova M, Gholami M, Kouhsari E, Sholeh M, et al. Tigecycline antibacterial activity, clinical effectiveness, and mechanisms and epidemiology of resistance: narrative review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [Internet]. 2022[citado 5 Nov 2022];41(7):1003-22.Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04121-1>.
- [95] . Sun Y, Cai Y, Liu X, Bai N, Liang B, Wang R. The emergence of clinical resistance to tigecycline. *International Journal of Antimicrobial Agents* [Internet]. 2013[citado 13 Abr 2022];41(2):110-6.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857912003706>.
- [96] . Pfaller MA, Huband MD, Streit JM, Flamm RK, Sader HS. Surveillance of tigecycline activity tested against clinical isolates from a global (North America, Europe, Latin America and Asia-Pacific) collection (2016). *International Journal of Antimicrobial Agents* [Internet]. 2018[citado 11 Dic 2022];51(6):848-53.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857918300098>.
- [97] . Findlay J, Poirel L, Kessler J, Kronenberg A, Nordmann P. New Delhi Metallo- β -Lactamase–Producing *Enterobacterales* Bacteria, Switzerland, 2019–2020. *Emerging infectious diseases* [Internet]. 2021[citado 28 Sep 2021];27(10):2628-37.Disponible en: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/27/10/21-1265_article.
- [98] . Kawai A, Suzuki M, Tsukamoto K, Minato Y, Doi Y. Functional and Structural Characterization of Acquired 16S rRNA Methyltransferase NpmB1 Conferring Pan-Aminoglycoside Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [Internet]. 2021[citado 9 Nov 2021];65(10):e01009-21.Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.01009-21>.
- [99] . Nordmann P, Poirel L, Walsh TR, Livermore DM. The emerging NDM carbapenemases. *Trends in Microbiology* [Internet]. 2011[citado 13 Sep 2021];19(12):588-95.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X11001776>.
- [100] . Pasteran F, Alborno E, Faccone D, Gomez S, Valenzuela C, Morales M, et al. Emergence of NDM-1-producing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [Internet]. 2012[citado 21 Sep 2021];67(7):1795-7.Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/Emergence-of-NDM-1-producing-Kpn-in-Guatemala-JAC-20121.pdf>.
- [101] . Quiñones D, Carvajal I, Perez Y, Hart M, Perez J, Garcia S, et al. High prevalence of blaOXA-23 in *Acinetobacter* spp. and detection of blaNDM-1 in *A. soli* in Cuba: report from National Surveillance Program (2010–2012). *New Microbes and New Infections* [Internet]. 2015[citado 26 ene 2022];7:52-6.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2052297515000499>.
- [102] . Khan AU, Maryam L, Zarrilli R. Structure, Genetics and Worldwide Spread of New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. *BMC microbiology* [Internet]. 2017[citado 22 Sep 2021];17(1):101.Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1012-8>.
- [103] . García-Betancur JC, Appel TM, Esparza G, Gales AC, Levy-Hara G, Cornistein W, et al. Update on the epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Review of Anti-infective Therapy* [Internet]. 2021[citado 16 ene 2022];19(2):197-213.Disponible en: <http://www.doi.org/10.1080/14787210.2020.1813023>.

- [104] . World population prospects 2019, Volume: demographic profiles. New York. United States: Organización de las Naciones Unidas; 2019.
- [105] . Anuario estadístico de Cuba 2019. La Habana. Cuba: Oficina Nacional de Estadísticas e Información 2020.
- [106] . Actualización de alerta por apareamiento de aislamientos productores de carbapenemasas OXA-48-like. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala; 2021. Report No.: TLGG-27-2021 Disponible en: <http://portal.ins.gob.gt/media/attachments/2021/09/14/circular-no.-27-alerta-cabapenemasa-oxa-1.pdf>.
- [107] . Nancy MT, Miryan F, Sofía B, Mariel B. Incremento en el aislamiento de bacilos gramnegativos resistentes a antimicrobianos de amplio espectro en hospitales de Paraguay. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social de Paraguay; 2021. Disponible en: <https://www.mspbs.gov.py/portal/23539/alerta-por-resistencia-antimicrobiana-a-todos-los-laboratorios-del-pais.html>.
- [108] . Schwartz-Neiderman A, Braun T, Fallach N, Schwartz D, Carmeli Y, Schechner V. Risk Factors for Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* (CP-CRE) Acquisition Among Contacts of Newly Diagnosed CP-CRE Patients. Infection Control & Hospital Epidemiology [Internet]. 2016[citado 15 feb 2022];37(10):1219-25. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/article/risk-factors-for-carbapenemaseproducing-carbapenemresistant-Enterobacteriaceae-cpcre-acquisition-among-contacts-of-newly-diagnosed-cpcre-patients/070F186D5106700D9B0489875F68B5C1>.
- [109] . Wang Q, Zhang Y, Yao X, Xian H, Liu Y, Li H, et al. Risk factors and clinical outcomes for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* nosocomial infections. European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology [Internet]. 2016[citado 15 feb 2022];35(10):1679-89. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27401905/>.
- [110] . Satlin MJ, Jenkins SG, Walsh TJ. The Global Challenge of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* in Transplant Recipients and Patients With Hematologic Malignancies. Clinical Infectious Diseases [Internet]. 2014[citado 15 feb 2022];58(9):1274-83. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/cid/ciu052>.
- [111] . Garbati MA, Sakkijha H, Abushaheen A. Infections due to Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* among Saudi Arabian Hospitalized Patients: A Matched Case-Control Study. BioMed Research International [Internet]. 2016[citado 12 Nov 2021];2016:3961684. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2016/3961684>.
- [112] . Tischendorf J, de Avila RA, Safdar N. Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: A systematic review. American Journal of Infection Control [Internet]. 2016[citado 10 Nov 2021];44(5):539-43. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2015.12.005>.
- [113] . Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment Options for Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Infections. Open Forum Infect Dis [Internet]. 2015[citado 9 Sep 2021];2(2):ofv050. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofv050>.
- [114] . Pacheco T, Bustos R-H, González D, Garzón V, García J-C, Ramírez D. An Approach to Measuring Colistin Plasma Levels Regarding the Treatment of Multidrug-Resistant Bacterial Infection. [Internet]. 2019[citado 5 May 2022];8(3):100. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/8/3/100>.

- [115] . Leng B, Yan G, Wang C, Shen C, Zhang W, Wang W. Dose optimisation based on pharmacokinetic/pharmacodynamic target of tigecycline. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* [Internet]. 2021[citado 6 May 2022];25:315-22. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213716521001028>.
- [116] . Management of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) infection in patients with hematological malignancies: Chinese consensus (2020). *Zhonghua xue ye xue za zhi = Zhonghua xueyexue zazhi* [Internet]. 2020[citado 8 Ago 2021];41(11):881-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7767803/>.
- [117] . Singh N, Yeh PJ. Suppressive drug combinations and their potential to combat antibiotic resistance. *The Journal of Antibiotics* [Internet]. 2017[citado 23 ene 2022];70(11):1033-42. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ja.2017.102>.
- [118] . Qin X, Wu S, Hao M, Zhu J, Ding B, Yang Y, et al. The Colonization of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Resistance Mechanisms, and Risk Factors in Patients Admitted to Intensive Care Units in China. *Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2020[citado 8 May 2021];221:S206-S14. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz622>.
- [119] . Mittal G, Gaiind R, Kumar D, Kaushik G, Gupta KB, Verma PK, et al. Risk factors for fecal carriage of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* among intensive care unit patients from a tertiary care center in India. *BMC microbiology* [Internet]. 2016[citado 8 May 2021];16(1):138. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0763-y>.
- [120] . Schwaber MJ, Carmeli Y. An Ongoing National Intervention to Contain the Spread of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2013[citado 7 Mar 2021];58(5):697-703. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/cid/cit795>.
- [121] . Facility guidance for control of carbapenem- resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) 2015 update. Atlanta. United States: Centers for disease control and prevention; 2015.
- [122] . Magiorakos AP, Burns K, Rodríguez Baño J, Borg M, Daikos G, Dumpis U, et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. *Antimicrobial resistance and infection control* [Internet]. 2017[citado 7 Mar 2021];6:113-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5686856/>.
- [123] . Soria-Segarra C, Soria-Segarra C, Catagua-González A, Gutiérrez-Fernández J. Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* in intensive care units in Ecuador: Results from a multicenter study. *Journal of Infection Public Health* [Internet]. 2020[citado 20 May 2021];13(1):80-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.06.013>.
- [124] . Yamamoto N, Asada R, Kawahara R, Hagiya H, Akeda Y, Shanmugakani RK, et al. Prevalence of, and risk factors for, carriage of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* among hospitalized patients in Japan. *Journal of Hospital Infection* [Internet]. 2017[citado 8 May 2021];97(3):212-7. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.07.015>.

- [125] . Salomão MC, Guimarães T, Duailibi DF, Perondi MBM, Letaif LSH, Montal AC, et al. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in patients admitted to the emergency department: prevalence, risk factors, and acquisition rate. The Journal of hospital infection [Internet]. 2017[citado 5 May 2021];97(3):241-6.Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.08.012>.
- [126] . Maseda E, Salgado P, Anillo V, Ruiz-Carrascoso G, Gómez-Gil R, Martín-Funke C, et al. Risk factors for colonization by carbapenemase-producing enterobacteria at admission to a Surgical ICU: A retrospective study. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2017[citado 5 May 2021];35(6):333-7.Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.02.017>.
- [127] . Yan L, Sun J, Xu X, Huang S. Epidemiology and risk factors of rectal colonization of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* among high-risk patients from ICU and HSCT wards in a university hospital. Antimicrobial resistance and infection control [Internet]. 2020[citado 8 May 2021];9(1):155.Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00816-4>.
- [128] . Snyder GM, O'Fallon E, D'Agata EMC. Co-colonization with multiple different species of multidrug-resistant gram-negative bacteria. American Journal of Infection Control [Internet]. 2011[citado 10 ago 2022];39(6):506-10.Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2010.09.012>.
- [129] . Adediran T, Harris AD, Johnson JK, Calfee DP, Miller LG, Nguyen MH, et al. Epidemiologic and Microbiologic Characteristics of Hospitalized Patients Co-colonized With Multiple Species of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* in the United States. Open Forum Infect Dis [Internet]. 2020[citado 3 Abr 2022];7(10):ofaa386.Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7539689/>.
- [130] . Quiñones D, Aung MS, Carmona Y, González MK, Pereda N, Hidalgo M, et al. High Prevalence of CTX-M Type Extended-Spectrum Beta-Lactamase Genes and Detection of NDM-1 Carbapenemase Gene in Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* in Cuba. Pathogens [Internet]. 2020[citado 14 Oct 2022];9(1):65.Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-0817/9/1/65>.
- [131] . Ohno Y, Nakamura A, Hashimoto E, Noguchi N, Matsumoto G, Fukuda S, et al. Fecal carriage and molecular epidemiologic characteristics of carbapenemase-producing *Enterobacteriales* in primary care hospital in a Japanese city. Journal of Infection and Chemotherapy [Internet]. 2020[citado 3 May 2022];26(9):928-32.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1341321X20301367>.
- [132] . Ambretti S, Bassetti M, Clerici P, Petrosillo N, Tumietto F, Viale P, et al. Screening for carriage of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in settings of high endemicity: a position paper from an Italian working group on CRE infections. Antimicrobial resistance and infection control [Internet]. 2019;8:136.Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0591-6>.
- [133] . Tischendorf J, de Avila RA, Safdar N. Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: A systematic review. Am J Infect Control [Internet]. 2016;44(5):539-43.
- [134] . Richter SE, Miller L, Needleman J, Uslan DZ, Bell D, Watson K, et al. Risk Factors for Development of Carbapenem Resistance Among Gram-Negative Rods. Open Forum Infectious Diseases [Internet]. 2019[citado 15 feb 2022];6(3).Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz027>.

- [135]. Bar-Yoseph H, Hussein K, Braun E, Paul M. Natural history and decolonization strategies for ESBL/carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* carriage: systematic review and meta-analysis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* [Internet]. 2016[citado 28 Mar 2022];71(10):2729-39. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jac/dkw221>.
- [136]. Tacconelli E, Mazzaferri F, de Smet AM, Bragantini D, Eggimann P, Huttner BD, et al. ESCMID-EUCIC clinical guidelines on decolonization of multidrug-resistant Gram-negative bacteria carriers. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2019[citado 28 Mar 2022];25(7):807-17. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X19300254>.
- [137]. Shi Q, Pan J, Ma Y, Hu B, Gao X. Knowledge and practice of Chinese physicians toward carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: a nationwide cross-sectional survey in top 100 hospitals. *Journal of thoracic disease* [Internet]. 2018[citado 15 Oct 2022];10(7):4396-402.
- [138]. Perez F, El Chakhtoura NG, Papp-Wallace KM, Wilson BM, Bonomo RA. Treatment options for infections caused by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: can we apply "precision medicine" to antimicrobial chemotherapy? *Expert Opin Pharmacother* [Internet]. 2016[citado 21 ene 2022];17(6):761-81. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4970584/>.
- [139]. Guan X, He L, Hu B, Hu J, Huang X, Lai G, et al. Laboratory diagnosis, clinical management and infection control of the infections caused by extensively drug-resistant Gram-negative bacilli: a Chinese consensus statement. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2016[citado 21 ene 2022];22:S15-S25. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X15009866>.
- [140]. Friedman ND, Carmeli Y, Walton AL, Schwaber MJ. Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: A Strategic Roadmap for Infection Control. *Infection Control & Hospital Epidemiology* [Internet]. 2017[citado 15 abr 2022];38(5):580-94. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/article/carbapenemresistant-Enterobacteriaceae-a-strategic-roadmap-for-infection-control/942F0B95D7849FCAFC29645D8E9C01AD>.
- [141]. González Romero G, Acuña Ramírez ERD, Zapata Contreras DAN. Conocimientos sobre control y prevención de infecciones por enterobacterias resistentes a carbapenems en profesionales de salud de un hospital de tercer nivel de Lima–Perú; [Tesis de grado]. Lima, Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2020. [citado 15 Oct 2022] Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12866/7875>

*VIII. PUBLICACIONES Y EVENTOS
CIENTÍFICOS*

VII. PUBLICACIONES Y EVENTOS CIENTÍFICOS

Publicaciones:

Yu H, Han X, Quiñones Pérez D. La humanidad enfrenta un desastre: la resistencia antimicrobiana. Revista Habanera de Ciencias Médicas [Internet]. 2021.

Yu H, González Molina MK, Carmona Cartaya Y, Hart Casares M, Aung MS, Kobayashi N, Quiñones D. Multicenter Study of Carbapenemase-Producing *Enterobacterales* in Havana, Cuba, 2016-2021. Antibiotics (Basel, Switzerland) [Internet]. 2022;11(4).

Yu H, Hernández González A, Estévez Torres G, González Molina MK, Hart Casares M, Han X, Quiñones Pérez Dianelys. A Retrospective Study of Risk Factors, Mortality, and Treatment Outcomes for Infections with Carbapenemase-Producing *Enterobacterales* in a Tertiary Hospital in Havana, Cuba. Antibiotics (Basel, Switzerland) [Internet]. 2022;11(7):942.

Yu H, Hernández González A, Estévez Torres G, Pérez Chacón D, Ramos Rodríguez V, Han X, Baly Gil Alberto, Quiñones Pérez Dianelys. Conocimientos y prácticas de los médicos cubanos respecto a *Enterobacterales* resistentes a carbapenémicos Revista Cubana de medicina tropical. 2022. (Aceptado)

Eventos:

Dianelys Quiñones, **Haiyang Yu**, Alberto Hernández Gonzalo Estévez, María K. Gonzalez, Marcia Hart , Xu Han. Clinical-Epidemiological and Microbiological Characterization of Infections by Carbapenemase-Producing *Enterobacterales* in a Tertiary Hospital in Havana, Cuba. The 2nd International Electronic Conference on Antibiotics—Drugs for Superbugs: Antibiotic Discovery, Modes of Action And Mechanisms of Resistance session Epidemiology & Multidrug Resistance. 15 June 2022

Dianelys Quiñones, **Haiyang Yu**, María Karla González, Vismayda Bouza, Yenisel Carmona, Gonzalo Estévez, Eduardo Echevarria, Valia Ramos, Marcia Hart, Ana María Cordero, Patricia Ruiz. Colonización intestinal por *Enterobacterales* productores de carbapenemasas en un hospital de tercer nivel en La Habana, Cuba. "XXVI Congreso de la Federación Latinoamericana de Parasitología (FLAP), XV Congreso Centroamericano y del Caribe de Parasitología y Medicina Tropical (ACACPMT), X Congreso Cubano de Microbiología y Parasitología, VII Congreso Nacional de Medicina Tropical, VII Seminario Internacional sobre la Infección por el VIH y el Sida en Cuba."

VIII. ANEXOS

VIII. ANEXOS

Anexo I. Modelo de recolección de datos. LNR-IAAS, IPK

Vigilancia Nacional de Patógenos productores de BLEE, carbapenemasas y/o resistente a colistina

Nombre del Hospital: _____ Municipio: _____
Provincia: _____

Número de entrada de la muestra: _____

Fecha: _____

1.- Nombre del paciente: _____

2.- No. HC: _____

3.- Edad: _____ años

4.- Diagnóstico al ingreso o tipo de infección: _____

5.- Sala de hospitalización: _____

6.- Enfermedades crónicas de base: Si _____ No _____

¿En caso afirmativo Cuál?

7.- Ingreso hospitalario previo al cultivo: _____ días.

8.- Tipo de muestra:

- a) Hemocultivo _____
- b) Espudo o aspirado bronquial _____
- c) Lavado bronquioalveolar _____
- d) Otro tipo de muestra respiratoria _____
- e) Herida/absceso (especificar localización) _____
- f) Orina _____
- g) Catéter _____
- h) LCR _____
- i) Hisopado rectal/Heces _____

9.- Factores de riesgos

- a) Catéter venoso: Central: _____ Periférico _____ Arterial _____
- b) Sonda urinaria _____
- c) Sonda nasogástrica _____
- d) Ventilación mecánica invasiva _____
- e) Estancia prolongada en Unidades de Cuidados Intensivos _____
- f) Estancia prolongada hospitalaria _____
- g) Hemodiálisis _____ Diálisis peritoneal _____

h) Estuvo ingresado el paciente, previamente? (Hasta un año antes del ingreso actual) No___ Si ___ Referir nombre del hospital _____

i) Ingreso previo en el mismo hospital o traslado de servicio _____

j) Antibioterapia previa a la toma de la muestra: Si _____ No _____

Especificar antibióticos_____

10.- Resultados microbiológicos:

a) Identificación de especie: _____

b) Susceptibilidad antimicrobiana: _____

c) Carbapenemfasa ___ BLEE___ Resistencia plasmática colistina___

12.-Respuesta terapéutica frente a la infección:

a) Satisfactoria: _____

b) Especificar antibióticos usados _____

c) No satisfactoria: Por: _____

d) Especificar cambio de antibióticos_____

13.- Fallecido

No___ Si ___ (Fecha de fallecimiento_____)

Anexo II. Modelo de recolección de datos. LNR-IAAS, IPK.

Estudio de Portadores fecales de Enterobacterales productores de carbapenemasas

Sala de hospitalización: _____ ; **Fecha de ingreso** _____

1.- Nombre del paciente: _____

2.- No. HC: _____

3.- Edad: _____ años

4.-Detección de colonización:

- **1^{er} cribado** ___(P/N); patógeno _____
- **2^{do} cribado** ___(P/N); patógeno _____
- **3^{er} cribado** ___(P/N); patógeno _____
- **4^{to} cribado** ___(P/N); patógeno _____
- **Fecha de muestra positivo** _____

5.- Diagnóstico de infección al ingreso : Si ___ No ___ ; Referir tipo de infección _____

6.- Enfermedades crónicas de base: Si ___ No ___

¿En caso afirmativo Cuál?

7.- Factores de riesgos

- Catéter venoso: Central: ___ Periférico ___ Arterial ___
- Sonda urinaria _____
- Sonda nasogástrica _____
- Ventilación mecánica invasiva _____
- Operación _____
- Estuvo ingresado el paciente, previamente? (Hasta un año antes del ingreso actual) No ___ Si ___ Referir nombre del hospital _____
- Origen de paciente: Consulta externa _____; Traslado de otro hospital _____
- Antibioterapia previa a la toma de la muestra: Si ___ No ___

Especificar antibióticos y duración _____

Anexo III. Consentimiento informado. Estudio de Portadores fecales de Enterobacterales productores de carbapenemasas

El Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí y el Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras" desarrollarán un estudio donde se determinará la colonización intestinal por enterobacterias en pacientes hospitalizados en diferentes servicios durante el período enero-marzo 2022 (Etapa 1) y junio-agosto 2022 (Etapa 2) y tienen a bien invitarlo a participar en la investigación.

Por tal motivo, le será entregado para su conocimiento y comprensión este consentimiento que consta de tres partes: **Parte I:** Hoja informativa (para compartir información del estudio con Ud.), **Parte II:** Firma del consentimiento (para que Ud firme si decide participar en el estudio), y **Parte III:** Firma del consentimiento (para su firma como constancia y queda bajo la custodia del investigador).

Parte I: Hoja Informativa

Introducción: Lo incitamos a participar en la investigación: Cultivos de vigilancia epidemiológica para la detección de portadores fecales de carbapenemasas e infecciones relacionadas en servicios del Hospital "Hermanos Ameijeiras" entre enero-agosto 2022.

INVESTIGADORES PRINCIPALES: Dra. Dianelys Quiñones Pérez, IPK (Teléfono: 72553566) y Dr. Gonzalo Estévez, Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras", (Teléfono 78761956).

Es importante que antes de decidirse usted entienda toda la información, que incluye sus derechos y nuestras responsabilidades para con usted. Por favor, siéntase libre de hacer cualquier pregunta relacionada con el estudio, antes de decidir su participación. Si surgiera alguna pregunta posteriormente, Ud. puede realizarla al responsable del estudio en el hospital Dr. Gonzalo Estévez, o a cualquier miembro del equipo.

Objetivos y descripción de la investigación: La emergencia de nuevos mecanismos de resistencia a los antibióticos, como lo es la producción de carbapenemasas, en bacilos gram negativos, constituye desde hace varios años

un problema para las entidades médicas de Cuba y el mundo. La producción de estas enzimas le confiere a dichas bacterias la propiedad de ser resistentes a los antibióticos de última generación, lo que hace que las opciones terapéuticas se reduzcan considerablemente. Entre las escasas opciones se encuentran la colistina, fosfomicina y la tigeciclina. Actualmente la tigeciclina no se encuentra dentro de cuadro básico de medicamento de nuestro país y los aislamientos resistentes a colistina han aumentado de manera significativa, por tanto la prevención de la diseminación constituye en estos momentos una herramienta de vital importancia para hacer frente a esta situación. La implementación de cultivos de vigilancia epidemiológica, objetivo de la presente investigación, constituye una de las medidas más eficaces para prevenir que el paciente enferme por bacterias multidrogorresistentes y se propicie un control de su diseminación.

Selección de los participantes: Pacientes hospitalizados en terapia cardiovascular, terapia de los piso 5to y 8vo, servicio de trasplante, hematología, urología y litotricia del Hospital Hermanos Ameijeiras, serán invitados a participar en este estudio a realizarse durante el período enero-marzo 2022 (Etapa 1) y junio-agosto 2022 (Etapa 2) durante su hospitalización.

Participación voluntaria: Su participación en esta investigación es enteramente voluntaria. Esperamos contar con su colaboración.

Procedimientos: Si usted acepta participar en el estudio, un médico le hará una entrevista, en la cual se le preguntarán sus datos personales y estado de salud, que no tomará mucho tiempo. Además, se le realizará un hisopado rectal (proceder no invasivo) que permitirá conocer a través de los estudios de laboratorio si usted porta una bacteria resistentes al antibiótico imipenen o meropenen. Una vez conocidos los resultados del diagnóstico, el paciente será informado del mismo por sus médicos de cabeceras y aquellos que resulten positivos serán evaluados por este.

Riesgos e incomodidades: existe un bajo riesgo físico relacionado con la toma de muestra, proceder que será realizado por personal especializado, asimismo compartirá información personal y de su entorno. En el caso que Ud. considere alguna pregunta demasiado personal o que lo haga sentir incómodo no tiene que

responder. El estudio no interferirá con la adecuada atención y seguimiento que usted recibirá por parte de los profesionales de la salud.

Beneficios: Usted recibirá el beneficio directo de conocer los resultados de laboratorio acerca de ser portador intestinal o no de una bacteria resistente a imipenen o meropenen, uno de los antibióticos más usados en este tipo de servicios de cuidados especiales. Se emplearán técnicas modernas aprobadas internacionalmente y avaladas para su uso en nuestro laboratorio, además de poder recibir el manejo clínico epidemiológico específico.

Confidencialidad: La información que usted nos brinde será mantenida de forma confidencial, no siendo compartida con personal ajeno a la investigación, la información brindada solo será utilizada para los fines de esta investigación.

Divulgación de los resultados: Los resultados de esta investigación serán compartidos con el Comité de Prevención y Control de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria (IAAS) del hospital y pudieran ser publicados en revistas científicas nacionales o internacionales respetando la confidencialidad y sus datos de identidad personal.

Derechos de rechazar o abandonar el estudio: La participación en este estudio es voluntaria y usted no está obligado a participar. Si no lo desea esto no influirá en la atención médica que recibirá. Además, usted puede retirarse del estudio en cualquier momento. Si tiene alguna pregunta, por favor realícela ahora o en cualquier otra ocasión.

Firma del interesado: _____ Fecha: _____

“He discutido el contenido de esta Hoja con los arriba firmantes. Les he explicado los riesgos y beneficios potenciales del estudio.”

Firma del Investigador _____

Fecha: _____

Parte II: Firma del consentimiento.

Parte para el participante: Yo declaro que he sido informado sobre este estudio y he recibido una copia del Consentimiento Informado. La información brindada ha

sido explicada y leída por mí, comprendo los objetivos y procedimientos del estudio, donde los datos colectados serán utilizados solamente para los propósitos de esta investigación. He tenido la oportunidad de hacer cualquier pregunta sobre la investigación y de esclarecer adecuadamente cualquier duda surgida.

Yo consiento voluntariamente y comprendo que tengo el derecho de abandonarlo cuando lo estime conveniente, sin que me cause daño.

Aclaración: En los casos en que los sujetos sean pacientes inconscientes, acoplados a ventilación mecánica, personas mentalmente incapacitadas o confinados, se requerirá la firma del familiar a cargo, o autoridad pertinente.

Para constancia de lo expuesto anteriormente firmo este documento:

_____ Fecha: ____/
_____/_____

_____ Fecha: ____/
_____/_____

Parte para el investigador: He leído debidamente el formulario de consentimiento para el probable participante, ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirмо que el individuo ha dado su consentimiento libremente.

Fecha: ____/____/_____

Firma y cuño: _____ Código de identificación:

Investigador principal: Dra. Dianelys Quiñones Pérez, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, La Habana.

Parte III: Constancia del consentimiento firmado por el participante.

Parte para el participante: Yo declaro que he sido informado sobre este estudio y he recibido una copia del Consentimiento Informado. La información brindada ha sido explicada y leída por mí, comprendo los objetivos y procedimientos del estudio, donde

los datos colectados serán utilizados solamente para los propósitos de esta investigación. He tenido la oportunidad de hacer cualquier pregunta sobre la investigación y de esclarecer adecuadamente cualquier duda surgida.

Yo consiento voluntariamente y comprendo que tengo el derecho de abandonarlo cuando lo estime conveniente, sin que me cause daño.

Para constancia de lo expuesto anteriormente firmo este documento:

Fecha: ____/____/____

Nombre y apellidos del participante:

Firma _____

Parte para el investigador: He leído debidamente el formulario de consentimiento para el probable participante, ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado su consentimiento libremente.

Fecha: ____/____/____

Firma y cuño:

Nombre y apellidos del investigador principal: Dra. Dianelys Quiñones Pérez,
Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, La Habana.

Anexo IV. CUESTIONARIO SOBRE ERC/PC

Enterobacterales resistentes a carbapenémicos productoras de carbapenemasas (ERC/PC) constituye una amenaza emergente para la salud mundial que requiere acciones multidisciplinarias para su prevención y control. **El objetivo** del presente cuestionario es explorar la experiencia de los médicos de asistencia a nivel hospitalario en el comportamiento clínico de las infecciones por ERC/PC, su manejo terapéutico, su control y prevención en los hospitales de La Habana, así como identificar necesidades de aprendizaje sobre esta emergencia global que cursa con una mortalidad elevada y cuenta con opciones terapéuticas muy limitadas. Los resultados facilitarán el desarrollo de un plan de formación continua en la temática para mejorar el desempeño de los profesionales de la salud en el control de las infecciones por patógenos hospitalarios multidrogoresistentes y garantizar un uso optimizado de los antibióticos.

1. Información de sociodemográfica

Complete exhaustivamente los elementos que se reflejan debajo. Marque con una cruz cuando se requiera

Edad: _____ Hospital: _____ Servicio: _____

Cargo ocupacional: Médico Residente Médico asistente

2. Evaluación de conocimientos sobre ERC/PC

Diga si las siguientes afirmaciones son verdaderas (V) o falsas (F)

Afirmaciones		V	F
Aspectos generales sobre ERC:			
1	Las ERC son una familia de bacterias gramnegativas que se encuentran en el tracto gastrointestinal del humano que desarrollan resistencia, a la vez, a todos los carbapenémicos.		
2	Las ERC/PC puede causar infecciones en el torrente sanguíneo, neumonía asociada al ventilador, infecciones de herida quirúrgica, abscesos intraabdominales y el tracto urinario a menudo en personas que tienen un catéter urinario o tienen retención urinaria, entre otras.		
3	Las poblaciones que se consideran para el cribado activo (el cultivo de vigilancia epidemiológica) incluyen pacientes con colonización previa de ERC, contactos de pacientes colonizados o infectados por ERC, pacientes con antecedentes de hospitalización reciente en entornos endémicos de ERC.		
4	La susceptibilidad o resistencia de las enterobacterias u otros bacilos gramnegativos se conoce según el antibiograma y la determinación de la concentración inhibitoria mínima.		
5	No interesa conocer la concentración mínima inhibitoria del carbapenémico para definir su uso en la terapia frente a una infección por ERC/PC.		
Epidemiología y Transmisión			

6	En los centros de atención de la salud, los pacientes con mayor riesgo de infección por ERC/PC son los que tienen una estancia prolongada y exposición a procedimientos médicos invasivos y de enfermería intensiva.		
7	Las enterobacterias más frecuentes que desarrollan mecanismos para inactivar carbapenémicos son: <i>Klebsiella</i> spp, <i>Escherichia coli</i> y <i>Enterobacter</i> spp.		
8	El individuo puede permanecer colonizado por ERC/PC si está en buen estado de salud y no tiene la capacidad para la transmisión a otros.		
9	La transmisión del ERC/PC se produce por contacto directo o indirecto. Las ERC/PC se aíslan predominantemente de los pacientes y residentes con exposiciones en centros de atención de la salud y pueden propagarse de una persona a otra por las manos de los trabajadores de atención de la salud cuando se pasa por alto la higiene de las manos, o a través de equipos médicos compartidos que no se limpian y desinfectan adecuadamente.		
10	Enterobacterias productoras de carbapenemasas colonizan las superficies de lavabos, camas, desagües de duchas, endoscopios.		
Diagnóstico y Tratamiento			
11	La distinción entre infección y colonización requiere un análisis exhaustivo de información como la presencia o ausencia de signos y síntomas clínicos de infección, el lugar y el método correcto de recogida de muestra, la evaluación de la calidad de las muestras recogidas, las		

	características de especie y resistencia de las bacterias aisladas y la respuesta terapéutica a los medicamentos antimicrobianos.		
12	<p>Un paciente de 53 años ingresado en la UCI, tuvo necesidad de ventilación mecánica e inserción de un catéter urinario. En el 3er día, presentó una fiebre alta (> 38.1 °C). Examen físico se auscultó estertores húmedos en ambos pulmones y examen complementario se presentaron los indicadores de infección aumentados. Y se indicó con cultivo de aspirado traqueal y urocultivo, mientras se comenzó tratamiento empírico con ceftazidima. En evolución posterior, se constató la temperatura a 37.2 °C y los indicadores de infección disminuyeron. El resultado de laboratorio de microbiología reportó cultivo de aspirado traqueal positivo a <i>A. baumannii</i> y urocultivo positivo a <i>Klebsiella pneumoniae</i> resistente a carbapenémicos (KPRC). Según el presente de caso, se considera este paciente con una neumonía intrahospitalaria por <i>A. baumannii</i> combinado con una infección urinario nosocomial por KPRC.</p>		
13	<p>El tratamiento empírico se justifica cuando no se dispone del diagnóstico del agente causal o la urgencia del caso lo requiera. Sin embargo, antes de iniciar el tratamiento debe obtenerse la muestra para realizar examen microbiológico y facilitar la definición del tratamiento.</p>		
14	<p>Aumentar la dosis, tiempo de infusión prolongado y medicamentos combinados son los métodos elegidos frecuentemente para tratar la infección por ERC/PC.</p>		

15	Los carbapenémicos pueden ser eficaces tanto frente a los microorganismos productores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) como frente a los productores de carbapenemasas con una CIM < 8 mg/L.		
Control y Prevención			
16	Las medidas de precaución de contacto se deben utilizar adicionalmente a las medidas de precaución estándar empleadas con todos los pacientes con ERC/PC y se debe proceder al aislamiento obligatorio del este.		
17	Los familiares pueden visitar a un paciente con ERC/PC pues tienen un bajo riesgo de adquirir una infección de ERC/PC, sin embargo, los visitantes deben realizar las medidas de higiene (limpiarse las manos antes de entrar y salir, evitar usar el baño del paciente y usar batas, etc.)		
18	No es necesario cambiar los guantes al pasar de una parte del cuerpo contaminada a otra limpia cuando se realizan operaciones terapéuticas para el mismo paciente.		
19	Cuando tenga un resultado negativo de cultivo para descartar ERC/PC pueden retirar las Precauciones de Contacto para los pacientes infectados o colonizados.		
20	Los estudios de colonización denominados cultivos de vigilancia epidemiológica es una de las medidas más importantes en el control de brotes por ERC/PC por lo que se indican al detectar el primer caso en un servicio hospitalario para el aislamiento precoz de los portadores fecales de ERC/PC.		

3. Experiencia de manejo clínico sobre las ERC/PC.

A. ¿Ha tenido experiencia en el manejo de pacientes infectados por ERC/PC?

Sí No Si su respuesta es afirmativa diga si su experiencia fue: En los últimos 6 meses Previo a los 6 meses

B. ¿ Conoce usted las características epidemiológicas (tasa de infección por ERC/PC, perfil de susceptibilidad antimicrobiana, el tipo de carbapenemasas predominante) de ERC/PC del hospital?

No Sí , algunos de los indicadores Sí , completo

C. ¿Qué combinación de antibióticos considera eficaz para tratar la infección del ERC/PC? (marque con una cruz todas las opciones que considere correctas).

- a. Monoterapia (un antibiotico activo)
- b. carbapenem (concentración inibidor mínima menor que 8)+otro antibiótico activo (ej. colistina, aminoglucósidos, fosfomicina...)
- c. doble terapia con carbapenem
- d. combinación de dos antibióticos activos (no carbapenem)

D. Teniendo en cuenta la evolución desfavorable de los pacientes infectados por ERC/PC por la severidad de la infección y la extremadrogoresistencia que acarrean, ¿conoce **los nuevos farmacos antimicrobianos aprobados** para este tipo de infección? Por favor, mencione los que conozca.

E. ¿Qué medidas considera aceptadas para controlar la transmisión del ERC/PC? (marque con una cruz todas las opciones que considere correctas).

- a. Vigilancia activa
- b. Precauciones de contacto
- c. Lavado de manos
- d. Limpieza ambiental
- e. Descontaminación digestiva selectiva

F. Cómo considera la implementación de un protocolo específico de prevención y control ERC/PC?

- a. Imprescindible
- b. Importante, pero solo es un documento complementario
- c. No necesario

4. Sugerencias y necesidades

G. ¿Que vías de superación le han permitido a usted conocer sobre ERC/PC?

- a. Autodidacta
- b. Cursos
- c. Maestría
- d. Diplomado
- e. Otros: (si marca Otros, por favor especifique) _____

H. Marque con una X en que aspectos necesita incrementar su conocimiento y capacitación para un mejor desempeño en las infecciones por ERC/PC.

- a. Microbiología
- b. Epidemiología y medidas de prevención y control de infección
- c. Diagnóstico y manejo terapéutico

Anexo V. La cuantificación de la validez de contenido de cuestionarios:

Prueba de conocimientos		Puntuación Experto									
No.	Evaluación	1 ^{ro}	2 ^{do}	3 ^{ro}	4 ^{to}	5 ^{to}	SUMA puntuaciones	PROMEDIO puntuaciones	V de Aiken	LV	RV
1	Adecuación	5	4	5	5	5	24	4.80	0.95	0.76	0.99
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
2	Adecuación	5	3	5	5	5	23	4.60	0.90	0.70	0.97
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
3	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
4	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
5	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
6	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
7	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
8	Adecuación	5	4	5	5	5	24	4.80	0.95	0.76	0.99
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
9	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
10	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00

11	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
12	Adecuación	5	3	5	5	5	23	4.60	0.90	0.70	0.97
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
13	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
14	Adecuación	5	4	5	5	5	24	4.80	0.95	0.76	0.99
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
15	Adecuación	5	4	5	5	5	24	4.80	0.95	0.76	0.99
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
16	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
17	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
18	Adecuación	5	4	5	5	5	24	4.80	0.95	0.76	0.99
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
19	Adecuación	5	4	5	5	5	24	4.80	0.95	0.76	0.99
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
20	Adecuación	5	4	5	5	5	24	4.80	0.95	0.76	0.99
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00

Preguntas para experiencias		Puntuación de Experto									
No.	Evaluación	1 ^o	2 ^{do}	3 ^o	4 ^{to}	5 ^{to}	SUMA puntuaciones	PROMEDIO puntuaciones	V de Aiken	LV	RV
A	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
B	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
C	Adecuación	4	3	5	5	5	22	4.40	0.85	0.64	0.95
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
D	Adecuación	4	5	5	5	5	24	4.80	0.95	0.76	0.99
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
E	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
F	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
G	Adecuación	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00
H	Adecuación	5	3	5	5	5	23	4.60	0.90	0.70	0.97
	Pertinencia	5	5	5	5	5	25	5.00	1.00	0.84	1.00