



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**Facultad de Medicina**

**División de estudios de posgrado e investigación**

**Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío**

**TESIS**

**PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD, PREVALENCIA Y MECANISMOS DE RESISTENCIA A  
CARBAPENÉMICOS EN ENTEROBACTERIAS Y PSEUDOMONAS EN HOSPITALES DE LEÓN,  
GUANAJUATO.**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

PRESENTA

**Jesús Emmanuel Salas Sandoval**

DIRECTOR DE TESIS

**Liz Jovanna Martínez Navarro**

ASESOR METODOLÓGICO

**Juan Luis Mosqueda Gómez**

LEÓN, GUANAJUATO, 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

Antecedentes.....	3
Justificación.....	10
Planteamiento del problema .....	11
Objetivos.....	12
Material y métodos.....	12
Desenlaces y varibales del estudio .....	16
Análisis estadístico.....	20
Aspectos éticos.....	20
Resultados.....	21
Discusión.....	25
Conclusiones.....	28
Referencias.....	29
Anexo 1.....	34

## ANTECEDENTES

Recientemente, se han aprobado algunos antibióticos nuevos para su uso contra organismos gram positivos como el estafilococo aureus<sup>4</sup>. Sin embargo, las infecciones causadas por patógenos gramnegativos son mucho más difíciles de tratar debido a su alta resistencia intrínseca a diversos medicamentos. En los últimos 30 años solo se haya desarrollado una única nueva clase de antibiótico, que además no actúa contra las bacterias Gram-negativas<sup>5</sup> (la teixobactina).

Dentro de esta resistencia, han surgido nuevas cepas que conllevarán mayor impacto clínico y epidemiológico en los próximos años.

La identificación de enterobacterias productoras de carbapenemasa en muestras ambientales de Nueva Delhi, India, en 2011 tuvo importantes implicaciones clínicas para las personas que viven en entornos de bajos recursos que dependen de las instalaciones públicas de agua y saneamiento<sup>6</sup>. Actualmente, estas cepas, resistentes a carbapenémicos, incluidas *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, también se están propagando rápidamente hacia y dentro de los países de altos recursos<sup>7</sup>.

Si a este problema mayúsculo agregamos que, como se adelantó previamente, el periodo actual es a menudo definido como un "vacío de descubrimiento de antibióticos", pues no se han desarrollado nuevos antibióticos importantes (el desarrollo más importante relacionado con las diferentes clases de antibióticos tuvo lugar en el período comprendido entre 1949 y 1980), podremos comprender la relevancia de realizar estudios que aborden la prevalencia y caracterización de la resistencia antimicrobiana en distintos entornos.

### Resistencia a Carbapenémicos.

Los carbapenémicos son antibióticos  $\beta$ -lactámicos que se unen a las proteínas de unión a la penicilina e inhiben la síntesis de la pared celular. Meropenem, doripenem, ertapenem e imipenem son los cuatro carbapenémicos utilizados clínicamente<sup>8</sup>. Si bien durante varios años fueron la última arma en el arsenal terapéutico antimicrobiano, con muy buenos resultados, durante la última década hemos observado un cambio en el paradigma, secundario a los mecanismos de resistencia de varios organismos.

En el 2013, un informe de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) en Estado Unidos, clasificó a las enterobacterias resistentes a carbapenémicos (ERC) como una de las tres amenazas de resistencia antimicrobiana más urgentes. Las ERC recibieron este nivel de amenaza más alto debido al aumento veloz de su propagación global, la predisposición de la resistencia a múltiples fármacos y la alta mortalidad durante las infecciones del torrente sanguíneo (bacteriemias)<sup>9</sup>.

El Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico define a las enterobacterias como resistentes a carbapenémicos si tienen concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de  $\geq 2$   $\mu\text{g/ml}$  contra ertapenem y  $\geq 4$   $\mu\text{g/ml}$  contra doripenem, meropenem o imipenem<sup>10</sup>.

Los organismos resistentes a carbapenémicos pueden mostrar una variación significativa en los valores de la concentración inhibitoria mínima (MIC) del carbapenémico, dependiendo de su estado de permeabilidad, la tasa de hidrólisis de carbapenémico por la enzima asociada y el nivel de expresión génica<sup>11</sup>.

Además, aquellas enterobacterias que están documentadas por producir una carbapenemasa también se consideran ERC, independientemente de la MIC del carbapenémico. Y para especies de enterobacterias que tienen resistencia intrínseca al imipenem -como *Morganella morganii*, *Proteus* spp. y *Providencia* spp., se requiere resistencia a los carbapenémicos distintos del imipenem.

En cuanto a *Pseudomonas*, una de las principales causas de infecciones nosocomiales en los entornos hospitalarios<sup>12</sup>, los mecanismos de resistencia a carbapenémicos son la producción de Metalo Beta-lactamasa (mecanismo de carbapenemasas que se explicará más adelante), la sobreexpresión del flujo de salida y la pérdida de la proteína de membrana externa, entre otros<sup>13</sup>. Incluso, cualquiera de la producción de metalo  $\beta$ -lactamasa o la sobreexpresión del flujo de salida podría inducir resistencia a otros  $\beta$ -lactámicos antipseudomonales.

De estos organismos, los que muestran una resistencia manifiesta a los carbapenémicos se pueden dividir en dos grupos:

- 1) organismos productores de carbapenemasas (OPC) que, como su nombre indica, expresan carbapenemasas, enzimas que hidrolizan el anillo  $\beta$ -lactámicos del carbapenémico, y
- 2) organismos resistentes a los carbapenémicos que no producen carbapenemasas (no OPC) que tienen una susceptibilidad reducida a los carbapenémicos debido a la expresión de cefalosporinasas ( $\beta$ -lactamasas de espectro extendido y AmpC) junto con defectos de permeabilidad celular (cambios en la permeabilidad de la membrana a través de mutaciones en bombas de flujo o porinas).

A diferencia de los organismos no productores de carbapenemasas, los genes asociados con los OPC son fácilmente transferibles a muchas especies gram-negativas, ya que a menudo se encuentran en elementos genéticos móviles (por ejemplo, plásmidos), lo que aumenta el potencial de propagación a gran escala.

Estas enzimas, las carbapenemasas, pertenecen a las clases A, B o D de Ambler<sup>14</sup>, con enzimas de clase A y D poseyendo un mecanismo hidrolítico basado en serina, y las enzimas de clase B requiriendo 1 o 2 iones de zinc por su actividad catalítica.

Finalmente, hay un caso de  $\beta$ -lactamasa de clase C que hidroliza imipenem (CMY-10)<sup>15</sup>.

Las carbapenemasas más comunes en los organismos productores de carbapenemasa son: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa (KPC-Clase A), metalo- $\beta$ -lactamasa de Nueva Delhi (NDM-Clase B), metalo- $\beta$ -lactamasa codificada por integrones de Verona (VIM-Clase B), metalo- $\beta$ -lactamasa de Imipenem (IMP-clase B) y oxacilinasas-48 (OXA-48-clase D). A continuación describiremos brevemente las características más importantes de cada una de ellas.

### β-lactamasas clase A.

La primera carbapenemasa de clase A se reportó en 1990, en un aislado de *Serratia Marcescens*, en Reino Unido<sup>16</sup>. Se identificaron muchas carbapenemasas clase A después del descubrimiento de *S. marcescens* enzima-1 (SME-1), incluyendo Guayana de espectro extendido 2 (GES-2) –siendo la mayoría de variantes GES solo BLEE, pero con mutaciones puntuales frecuentes que les confieren mayores propiedades hidrolíticas frente a los carbapenémicos-, Imipenasa/no metalo-β-lactamasa clase A (IMI/NMC), *Serratia fonticola* carbapenemasa-1 (SFC-1), SHV-38 -enzima que difiere en una sola sustitución de la SHV-1, β-lactamasa de espectro extendido- y la KPC, que ha sido reportada ampliamente en *K. pneumoniae* y otras enterobacterias, pero también se ha identificado en *Pseudomonas aeruginosa*<sup>17</sup>. Al igual que otras β lactamasas de espectro extendido, las carbapenemasas de esta clase son inhibidas tanto por ácido clavulánico y el tazobactam<sup>18</sup>. Ya que la KPC es la más común de las carbapenemasas clase A, profundizaremos en sus características más importantes.

KPC. Se descubrió en una cepa de *K. pneumoniae* resistente de Estados Unidos, año 2001. Es el agente responsable más importante de conferir resistencia a los carbapenémicos en infecciones por ERC del hemisferio occidental<sup>19</sup>. A diferencia de las carbapenemasas previamente caracterizadas de Clase A (NMC y SME), la KPC se transmite a través de plásmidos, lo que facilitó su rápida aparición en enterobacterias no *Klebsiellas*. KPC y su eficiente hidrólisis de carbapenémicos confiere altos niveles de resistencia en ausencia de cambios complementarios de permeabilidad de membrana o expresión de BLEEs, lo que la distingue de otras serina β-lactamasas<sup>20</sup>. La *K. pneumoniae* productora de KPC está muy extendida en su lugar de origen, Estados Unidos, pero también es endémica en algunos países europeos como Grecia e Italia.

### β-lactamasas clase B.

Las Metablo-β-lactamasas (MβL) se pueden diferenciar de las β-lactamasas de clase A y D por su uso de zinc en lugar de serina catalítica en el sitio activo, mediado por hidrólisis, de los β-lactamámicos. Por consiguiente, las MBL son inhibidas por quelantes de metales como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y el ácido dipicolínico (DPA), pero no por el ácido clavulánico u otros inhibidores de la β-lactamasa usados en la clínica. A menudo tienen perfiles de hidrólisis contra todos los β-lactámicos, excepto los monobactámicos, y pueden conferir un alto nivel de resistencia cuando se combinan con cambios en la permeabilidad de la membrana y la producción de BLEE<sup>21</sup>. Las MβL se descubrieron hace más de cuarenta años<sup>22</sup> (1960s), pero inicialmente no se consideraron un problema grave para la terapia antimicrobiana, porque se encontraron codificadas cromosómicamente y en organismos no patógenos<sup>23</sup>. Sin embargo, esta situación cambió en la década de 1990, con la diseminación de las IMP (imipenemasa metalo-β-lactamasa) y VIM (Verona-codificada metalo-β-lactamasa) en patógenos gramnegativos, incluyendo enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Acinetobacter baumannii*<sup>24</sup>. Ahora sabemos que los genes *bla*, que codifican MβLs, a menudo están integrados en integrones que están asociados con transposones o plásmidos que contienen múltiples genes de resistencia a fármacos, y por lo tanto, pueden ser

fácilmente transferido entre organismos<sup>25</sup>. Aunque hay 3 subclases de MβL (B1–B3) que difieren en homología de secuencia de aminoácidos, casi todas las de importancia clínica pertenecen a la subclase B1.

En 2009, surgieron los primeros reportes de enterobacterias transmisibles productoras de MβL en Estados Unidos, en pacientes adultos (tipo VIM y tipo NDM –Nueva Dehli Metallo-β-lactamasa-); aunque desde principios del 2004 ya se contaban con informes de *Pseudomonas aeruginosa* productora de MβL en ese mismo país (la VIM-7) y se asoció además con brotes nosocomiales en adultos en el 2005 (VIM-2)<sup>26</sup>. Las MβL más estudiadas, y con mayor carga de la enfermedad a nivel mundial son la NDM, IMP y VIM, por lo que ahondaremos un poco en cada una de ellas.

NDM. Originalmente endémica en algunas regiones de Asia, y responsable de varios brotes alrededor del mundo, el primer reporte que se tiene es de un urocultivo positivo para *K. pneumoniae*, tomado de paciente sueco que fue hospitalizado en India<sup>27</sup> en el 2009. Hasta la fecha, hay 18 variantes de NDM que han sido identificadas: NDM-1 a NDM-20<sup>28</sup> (ya que NDM-11 no se asignó a ninguna variante única y NDM-19 aún no se ha publicado). Las variantes son secundarias a mutaciones en el gen que codifica para la β-lactamasa, y es esta misma modificación la que determina la tasa de hidrólisis del carbapenémico. De todas ellas, es NDM-1 la más común en la práctica clínica. El gen que codifica esta MβL se encuentra en un elemento genético muy móvil, y el patrón de diseminación parece ser más complejo e impredecible que el del gen que codifica KPC. En ocasiones se utiliza una variedad de antimicrobianos no β-lactámicos, incluso como parte de terapia de combinación<sup>29</sup>. Sin embargo, a menudo los organismos que producen NDM son resistentes a una amplia variedad de antimicrobianos, por no decir a todos los antimicrobianos, lo que limita las opciones sin terapéuticas, y añade la frecuencia de efectos adversos dentro de los fármacos utilizados (colistina y fosfomicina, como ejemplos más frecuentes).

IMP. En 1988, la IMP-1 transferible se aisló por primera vez de una *P. aeruginosa*, en Japón, y fue encontrada en un integron clase 1 ubicado en un plásmido conjugacional. En 1991, se encontró en un aislado de *S. marcescens* también de Japón<sup>30</sup>, lo que sugiere una transferencia horizontal de genes de *bla* IMP-1 entre especies gram negativas no relacionadas, y también muestra predominio de aislados productores de IMP específicos con expansión clonal<sup>31</sup>. Hay más de 50 variantes de IMP dentro de este grupo, con 33 variantes identificadas en *P. aeruginosa*.

VIM. VIM-1 se identificó primero en *P. aeruginosa* en 1999, y después de eso, también se ha reportado en otras especies gram negativas de varios países (se encuentra en gran parte en Italia y Grecia)<sup>32</sup>. VIM-1 tiene la identidad de secuencia de aminoácidos más cercana (32.4%) a NDM-1. Actualmente, VIM-2 es la MβL más difundida en *P. aeruginosa* y ha sido la fuente de múltiples brotes<sup>33</sup>.

#### β-lactamasas clase D.

Las β- lactamasas de clase D se denominan oxacilinasas (OXA) porque escinden la oxacilina además de la penicilina, distinguiéndolas así de las β- lactamasas de clase A. Aunque inicialmente se caracterizaron como β-lactamasas de espectro extendido, en 1985, una cepa de *A. baumannii*

aislada en Reino Unido demostró que OXA-23 confería resistencia contra imipenem<sup>34</sup>. Esta clase de enzimas son frecuentes en *A. Baumannii*, pero no en *P. aeruginosa*. Entre el grupo heterogéneo OXA (que incluye más de 100 enzimas), se han identificado seis subgrupos principales con grados variables de actividad de hidrolización a carbapenémicos: OXA-23, OXA-24 / OXA40, OXA-48, OXA-58, OXA-143, y OXA-51. OXA-48 fue identificada en un aislado de *K. pneumoniae* (Turquía, 2001)<sup>35</sup>, y hasta la fecha continúa siendo la  $\beta$ -lactamasa clase D más frecuentemente detectada. Actualmente su región de distribución más preponderante es el Norte de África y Europa. OXA-48 y sus derivados (por ejemplo, OXA-181 y OXA-232) se han detectado en enterobacterias, hidrolizan  $\beta$ -lactámicos de espectro estrecho e hidrolizan débilmente a los carbapenémicos, pero respetan a las cefalosporinas de amplio espectro (ceftazidima, cefepime<sup>36</sup>). Además, las enzimas de este grupo se ven afectadas de forma variable por los inhibidores de las  $\beta$ -lactamasas usados en la clínica, como el clavulanato, el sulbactam o el tazobactam. Todos los grupos OXA, a excepción del OXA-51 -que está codificado cromosómicamente-, se transportan en plásmidos transmisibles.

Es de importancia considerar que, si bien ciertas carbapenemasas han sido asociadas típicamente a regiones o países específicos, en la era de viajes internacionales generalizados y exposición continua a la atención médica, la asociación entre un mecanismo de resistencia específico y una región determinada se ha debilitado, creando una necesidad de vigilancia local y nacional de rutina.

#### Detección.

Existen muchas pruebas fenotípicas y genotípicas de detección de carbapenemasas disponibles para su uso en laboratorios clínicos<sup>37</sup>. Varias pruebas comerciales (ya sea para uso exclusivo en investigación o aprobadas por la FDA) están disponibles para una detección más rápida de resistencia a carbapenémicos. Estas se pueden dividir en 2 categorías: pruebas moleculares que detectan el mecanismo de resistencia (la presencia de un gen que codifique una carbapenemasa) y pruebas fenotípicas que detectan la actividad in vitro de estas enzimas (hidrólisis de carbapenémicos in vitro). Nuestro protocolo consistirá en el uso del segundo tipo de pruebas para detectar la presencia de este mecanismo de resistencia a antimicrobianos. Pocas, por no decir que ninguna de estas pruebas, pueden ser realizadas en muestras de pacientes de manera directa, sino que requieren de un cultivo bacteriano previo.

Es importante además mencionar que el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) de los Estados Unidos no recomienda la diferenciación rutinaria en la práctica clínica entre organismos productores de carbapenemasas y aquellos no productores de estas enzimas, a excepción de los laboratorios que aún no han implementado los puntos de corte actuales de carbapenémicos para enterobacterias<sup>38</sup>. Esto último no es un inconveniente en los laboratorios participantes de nuestro estudio.

## Tratamiento

No es la finalidad de nuestro estudio evaluar las opciones terapéuticas para estos organismos, pero mencionaremos brevemente el panorama actual al cual nos enfrentamos.

El tratamiento óptimo de la infección debida a organismos productores de carbapenemasas es incierto y las opciones de antibióticos son limitadas. A nuestra disposición tenemos una combinación de fármacos antiguos y novedosos, los cuales describiremos brevemente.

Avibactam es un nuevo inhibidor de la b-lactamasa, que fue aprobado para uso en combinación con ceftazidima para tratar infección del tracto urinario complicada e infecciones intraabdominales, el 25 de febrero de 2015 por la FDA<sup>39</sup>. Datos iniciales de eficacia clínica para ceftazidima-avibactam provienen principalmente de dos ensayos clínicos fase 2<sup>40, 41</sup>, con un 3er estudio del 2018, comparando esta combinación vs meropenem para neumonías nosocomiales, incluyendo aquella asociada a la ventilación (demostró no inferioridad<sup>42</sup>).

La fosfomicina es un derivado del ácido fosfónico (ácido cis-1,2-eposipropilfosfónico) que ejerce actividad antimicrobiana bactericida contra patógenos susceptibles al bloquear la etapa temprana de la síntesis de la pared celular bacteriana. Tiene una actividad de amplio espectro y puede ser eficaz contra tanto Gram positivos (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus species*, *Streptococcus pneumoniae*) y bacterias Gram negativas. La susceptibilidad de los aislamientos de ERC a la fosfomicina varía según la geografía. En nuestro país contamos tanto con presentación oral (bien tolerada, y solo útil para tratar ITUs) y parenteral (la cual alcanza niveles adecuados en pulmón, válvulas cardiacas, hueso, tejidos blandos, etc.), a diferencia de Estados Unidos, donde solo se cuenta con la primera.

La tigeciclina es el primer miembro de la clase de gliciliciclina de antibioticos. Como un derivado de tetraciclina, se une con alta afinidad a los ribosomas bacterianos, aunque no se ve afectada por los mecanismos típicos que impulsan la resistencia bacteriana a las tetraciclinas<sup>43</sup>. Fue aprobada por la FDA en el 2005, y está etiquetada para el tratamiento de las infecciones de tejidos blandos complicadas, infecciones intraabdominales complicadas y neumonías adquiridas en la comunidad. Este fármaco no interactúa con carbapenemasas específicas, por lo que su actividad es diversa, ya sea contra algunas cepas de ERC que producen enzimas clase A (KPC), B (NDM-1) o D (OXA-48).

Colistina también llamada polimixina E, pertenece al grupo de antibióticos de polimixina. Es un antibiótico viejo, descubierto en la década de 1940, pero su uso clínico fue en gran parte abandonado en la década de 1970 por su nefro y neurotoxicidad. Pero el surgimiento de organismos multidrogosresistentes ha provocado un regreso a su uso<sup>44</sup>. Formulaciones parenterales y de nebulización contienen el colistimetato, que es un profármaco inactivo. El antimicrobiano es activo contra varios BGN incluyendo *Acinetobacter spp.*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*,

*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. y *Citrobacter* spp. Los puntos de corte de susceptibilidad para colistina publicados por EUCAST son 2 mg/L para *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. y enterobacterias<sup>45</sup>. Cuando se usa una polimixina (colistina o polimixina B) para las enterobacterias productoras de KPC o de M $\beta$ L, generalmente se usa con un segundo agente activo. Sin embargo, la proporción informada de pacientes con insuficiencia renal oscila entre el 33% y el 60,4% utilizando un estándar basado en definición que determina la gravedad de la lesión renal aguda (AKI) y KDIGO<sup>46</sup>. La nefrotoxicidad generalmente ocurre durante los primeros 7 días de tratamiento con colistina y es principalmente dependiente de la dosis y reversible con la interrupción de la colistina. El segundo efecto adverso más frecuente es la neurotoxicidad y ha sido reportado en aproximadamente el 7%, principalmente documentado como Parestesias periféricas u orofaciales, vértigo, trastornos visuales, Confusión, convulsiones y evento perjudicial de neuromuscular. Bloqueo que conduce a la parálisis de los músculos respiratorios y la apnea<sup>47</sup>.

Ceftolozano/Tazobactam, combinación entre cefalosporina e inhibidor de la  $\beta$ -lactamasa, originalmente aprobado por la FDA para el tratamiento de infecciones intraabdominales complicadas e ITUs (2015). Su dosificación y composición ofrecen cobertura antimicrobiana expansiva de organismos gramnegativos, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa*, y actividad estable contra muchas  $\beta$ -lactamasas, así como la cobertura de BLEES, junto algunos anaerobios. Es susceptible a la hidrólisis por carbapenemasas, pero no se ve afectado por otros mecanismos de resistencia como las bombas de eflujo o la pérdida de porinas. En un estudio del 2016<sup>48</sup>, ceftolozano/tazobactam fue exitoso en el tratamiento del 71% de los pacientes con infecciones por *P. aeruginosa* MDR, la mayoría de las cuales tenía neumonía. En un estudio del 2017<sup>49</sup>, donde se comparó la efectividad de Ceftolozano/Tazobactam y Ceftazidima/Avibactam contra aislamientos de *P. Aeruginosa* BLEE, en comparación con otros b-lactámicos *in vitro*, se encontró una respuesta mayor cuando se usaron los nuevos fármacos (12.0% de aislamientos susceptibles a imipenem, 15.9% a meropenem, 20.7% a piperacilina-tazobactam, 24.6% a ceftazidima, 25.9% a cefepime, 72.5% a C/T y 61.8% a CZ/A). Esto aún tiene que corroborarse con estudios multicéntricos, fase 3.

## **JUSTIFICACIÓN**

La resistencia microbiana a los antibióticos que se usan de manera rutinaria en la clínica es un problema de salud que afecta nuestra práctica cotidiana. Dentro de este panorama, el subgrupo de bacilos gram negativos es de vital importancia. La resistencia de los bacilos gram negativos a carbapenémicos está proliferando rápidamente en todo el mundo. En el 2016, la Organización mundial de la salud definió al entorno hospitalario como un componente central de los programas de control y prevención de infecciones, ya que es una fuente de brotes y eventos de transmisión esporádica de bacilos resistentes a carbapenémicos. El desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que hagan frente a esta situación, comparado con la rápida adquisición de nuevos mecanismos por parte de las bacterias patógenas para el ser humano, es lento

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La resistencia a los antimicrobianos, o la capacidad de las bacterias (patógenas) para resistir la acción de los antibióticos, recientemente se ha calificado de tener un impacto en los seres humanos similar al del cambio climático<sup>1</sup>.

Durante los últimos años, la medicina se ha enfrentado al desarrollo de cepas bacterianas altamente resistentes, que, como consecuencia de la actividad de viajes en todo el mundo, se dispersaron por todo el globo. Esto es aún más sorprendente si se tiene en cuenta que los antibióticos se introdujeron en la medicina humana hace apenas cien años. Sin embargo, desde el comienzo de esta era de los antibióticos, al descubrimiento de los primeros fármacos que proporcionaron beneficios consistentes para la salud de la medicina humana también se acompañó del uso indebido y abuso de los antimicrobianos en la medicina veterinaria y humana, lo cual ha acelerado el creciente fenómeno mundial de la resistencia antimicrobiana<sup>2</sup>. La resistencia cubre diferentes aspectos principales, resistencia natural, resistencia adquirida y resistencia clínica.

En el laboratorio de microbiología, la resistencia se mide de acuerdo a la susceptibilidad in vitro de los microorganismos a distintos antimicrobianos. Pero esto a su vez genera otro problema: la resistencia en un microorganismo contra un medicamento en particular puede impulsar determinadas decisiones de tratamiento en los clínicos, fomentando así la presión de selección para el desarrollo de resistencia contra otro antibiótico. Por lo tanto, las bacterias pueden adquirir más y más rasgos de resistencia, terminando con resistencia múltiple.

Es importante recalcar la importancia dentro de este grupo de microorganismos de las bacterias gramnegativas. Este subgrupo (en especial los bacilos) son responsables de una gran cantidad de infecciones resistentes a los antimicrobianos tanto en humanos como en animales. Entre esta clase de bacterias también se encuentran algunos de los organismos ambientales más exitosos. Parte de este éxito es su adaptabilidad a una variedad de nichos diferentes, su resistencia intrínseca a los fármacos antimicrobianos y su capacidad para adquirir rápidamente mecanismos de resistencia<sup>3</sup>. Por tal motivo consideramos ponderable realizar un estudio acerca de sus mecanismos de resistencia en nuestro medio.

## **HIPÓTESIS**

Este estudio no requiere de hipótesis debido a que es un estudio descriptivo.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Determinar prevalencia y caracterización de enterobacterias y pseudomonas resistentes a carbapenémicos en 3 hospitales de León, Guanajuato.

### Objetivos secundarios

- Caracterizar la proporción de mecanismos enzimáticos y no enzimáticos entre las enterobacterias resistentes a carbapenémicos en los 2 centros hospitalarios.
- Caracterizar la proporción de mecanismos enzimáticos y no enzimáticos entre las pseudomonas resistentes a carbapenémicos en los 2 centros hospitalarios.
- Caracterizar el tipo de carbapenemasas presentes en las enterobacterias resistentes por mecanismos enzimáticos.
- Caracterizar el tipo de carbapenemasas presentes en las pseudomonas resistentes por mecanismos enzimáticos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### a. Diseño general

- **Diseño del estudio:** Estudio descriptivo, observacional y transversal.
- **Población del estudio:** Cultivos con desarrollo de Enterobacterias y Pseudomonas Aeuruginosa desde marzo del 2019 a Agosto del 2019 en los siguientes centros hospitalarios: Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío y Hospital General de León
- **Universo del estudio:** Todas las muestras de cultivos desde marzo del 2019 a Agosto del 2019 en los siguientes centros hospitalarios: Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío y Hospital General de León de la ciudad de León, Guanajuato.
- **Tamaño de la muestra:** Cantidad total de cultivos con las propiedades necesarias para caracterizar a las poblaciones de Enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos.
- **Tipo de muestreo:** Secuencial, por conveniencia.
- **Lugar de realización:** Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío (HRAEB). Hospital General de León.
- **Periodo de tiempo de realización del estudio:** Mayo 2019 – Octubre 2019.
- **Descripción de la maniobra o intervención:**
  - Se revisarán todos los aislamientos positivos de enterobacterias y pseudomonas resistentes a carbapenémicos, mediante el uso de discos de susceptibilidad. Determinaremos si la

resistencia se debe a un mecanismo enzimático (presencia de carbapenemasas) o no enzimático (resistencia no mediada por carbapenemasas), en los microorganismos que presenten un mecanismo enzimático de resistencia se determinará el tipo de carbapenemasa presente.

- Se usará Kit de resistencia (Resisti Kit, Pfizer) que contiene: 3 paquetes de agar Mueller Hilton (10 cajas cada uno), E. Coli ATCC 25922 (cepa susceptible, control negativo no productora de carbapenemasas), K. Pneumoniae BAA-1705 (productora de serino carbapenemasa tipo KPC, control positivo), E. Cloacae BAA-2468 (productora de B-lactamasa NDM1, control positivo), 25 discos de meropenem de 10 ug, 25 discos de meropenem 10 ug con ácido fenilborónico, 25 discos de meropenem de 10ug con EDTA, 25 discos de meropenem de 10ug con cloxacilina, 25 tubos de 12x75mm y 14 tubos de 2ml con taón de rosca con 2ml de caldo soya tripticaseína.
- Se realizará un Método de inhibición de carbapenémico (modificado), para la detección de carbapenemasas:
  - Toma de colonias de la cepa problema con 1 asa bacteriológica de 1 uL estéril (procedimiento para enterobacterias) o con asa bacteriológica de 10 uL estéril (procedimiento para Pseudomonas spp).
  - Resuspensión de colonias en los tubos de 2ml con caldo soya tripticaseína. Mezcla posterior en agitador orbital tipo vórtex por 10 seg.
  - Depósito de 1 disco de meropenem de 10 ug e incubar durante 4 horas + 15 minutos, a  $35\text{ C} \pm 2\text{ C}$ . 10 minutos previos a finalizar las 4 horas, ajustar al 0.5 de McFarland la cepa E. Coli ATCC 25922 e inocular en la placa de agar Mueller Hinton.
  - Retiro con esterilidad del disco de meropenem, y depositar en la placa previamente inoculada con la cepa E. Coli ATCC 25922.
  - Incubar las placas a  $35\text{ C} \pm 2\text{ C}$  durante 18-24 horas (por lo menos 6 horas)
  - Interpretación de los resultados, de acuerdo al siguiente concepto:
    - Resultado carbapenemasa positivo. Diámetro de inhibición de 6-15mm o presencia de colonias puntiformes dentro de una zona de 7-15mm.
    - Resultado carbapenemasa negativo Diámetro de inhibición mayor o igual a 19mm (diámetro limpio)
    - Resultado carbapenemasa indeterminado Diámetro de inhibición de 16-18mm, o diámetro de inhibición mayor o igual de 19mm y la presencia de colonias puntiformes dentro de la zona de inhibición.
- Test con inhibidores (para la caracterización del tipo de carbapenemasa, si el resultado previo fue positivo).
  - Se prepara una suspensión al 0.5 de McFarland con la cepa a probar.

- Inoculación con la suspensión bacteriana en una placa de agar Muller Hinton con la ayuda de un hisopo estéril.
- Secar durante 3 a 10 minutos
- División de la placa en 4, con un marcador indeleble por el reverso.
- Colocación de un disco de meropenem de 10 ug en un cuadrante; en el otro cuadrante meropenem de 10 ug con ácido fenilborónico (AFB); en el tercer cuadrante meropenem 10 ug con EDTA; y en el último cuadrante meropenem 10 ug con cloxacilina (cada kit cuenta con 10 pruebas y 2 controles)
- Incubación a 35 °C ± 2, durante 18-24 horas.
- Interpretación de resultados de caracterización:
- Positiva: Aumento de igual o mayor a 5mm de la zona de inhibición de meropenem/inhibidor, en comparación con el meropenem solo.
- Negativa: Aumento menor o igual de 4mm en la zona de inhibición de meropenem/inhibidor, en comparación del meropenem solo.
- Carbapenemasa tipo A (KPC): Aquel resultado positivo en el disco de AFB y negativo en el resto de discos.
- Carbapenemasa tipo B (MBL): Aquel resultado positivo en el disco de EDTA, y negativo en el resto de los discos.
- Carbapenemasa tipo A con AmpC, posible presencia de AmpC con pérdida de porinas: Resultado positivo tanto en los discos de AFB como de Cloxacilina, negativo en EDTA.

**Criterios de selección para el grupo de intervención:**

▪ **Criterios de inclusión:**

Cultivos de sangre, orina, secreciones, expectoración y líquidos recabados en los 2 centros hospitalarios de la ciudad de León, Guanajuato.

Cultivos de pacientes adultos (18 años de edad en adelante), que hayan recibido atención en cualquier servicio intrahospitalario o ambulatorio de los 2 centros hospitalarios en la ciudad de León, Guanajuato.

Cultivos de sangre, orina, secreciones, expectoración, líquidos recabados en el Hospital Regional de Alta Especialidad y Hospital General de León de Marzo 2019 a Agosto 2019.

Cultivos de sangre, orina, secreciones o expectoración con un desarrollo positivo para enterobacterias (*E. coli*, *K. pneumoniae*, Enterobacter) y/o *Pseudomonas aeruginosa*.

## **Criterios de no inclusión:**

Cultivos duplicados de sangre, orina, secreciones, expectoración recabados en los 2 centros hospitalarios de la ciudad de León, Guanajuato, con desarrollo de Enterobacterias o *Pseudomonas aeruginosa*.

- **Criterios de exclusión:**

No aplica.

## DESENLACES Y VARIABLES DEL ESTUDIO

- **Desenlaces principales a medir:**
  1. **Número de enterobacterias y pseudomonas resistentes a carbapenémicos**
  2. **Número de enterobacterias y pseudomonas carbapenémico-resistentes con mecanismo de resistencia enzimático:** se obtendrá el número específico de microorganismos es estudiados con una resistencia enzimática a carbapenémicos.
  3. **Número de enterobacterias y pseudomonas carbapenémico-resistentes con mecanismo de resistencia enzimático productoras de KPC.**
  4. **Número de enterobacterias y pseudomonas carbapenémico-resistentes con mecanismo de resistencia enzimático productoras de Metalo beta lactamasa.**
  5. **Número de enterobacterias y pseudomonas carbapenémico-resistentes con mecanismo de resistencia enzimático productoras de Ampc, o posible presencia de Amp C con pérdidas de porinas.**

- **Variables a medir:**

Cultivo positivo para Enterobacterias:

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Cualitativa policotómica.

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier enterobacteria durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional: Será el desarrollo de enterobacterias en cualquiera de los cultivos (sangre, orina, secreciones, expectoración, líquidos) que se tomaron durante el periodo de tiempo seleccionado.

Cultivo positivo para Pseudomonas:

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Variable cualitativa nominal.

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier Pseudomonas durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional:

Será el desarrollo de pseudomonas en cualquiera de los cultivos (sangre, orina, secreciones, expectoración, líquidos) que se tomaron durante el periodo de tiempo seleccionado.

Cultivo positivo para Enterobacteria resistente a Carbapenémicos:

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Variable cualitativa policotómica.

Unidad de medición:

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier enterobacteria con resistencia a carbapenémicos mediante uso de discos de sensibilidad durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional:

Será una enterobacteria (Escherichia Coli, Klebsiella, Enterobacter, etc.) que ha desarrollado crecimiento en cualquiera de los cultivos previamente descritos y que además es resistente carbapenémicos, mediante la prueba Resisti Kit para carbapenemasa postiva.

Cultivo positivo para Pseudomonas resistente a Carbapenémicos:

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Variable cualitativa nominal.

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier Pseudomonas con resistencia a carbapenémicos mediante uso de discos de sensibilidad durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional:

Será cualquier Pseudomonas que ha desarrollado crecimiento en cualquiera de los cultivos previamente descritos y que además es resistente carbapenémicos, mediante la prueba Resisti Kit para carbapenemasa postiva.

Enterobacteria con expresión de Carbapenemasa tipo A (KPC):

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Variable cualitativa policotómica.

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier enterobacteria resistente a carbapenémicos, cuyo mecanismo de acción sea enzimático, y con expresión de carbapenemasa grupo A de Ambler, durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional: Será el desarrollo de enterobacterias en cualquiera de los cultivos (sangre, orina, secreciones, expectoración, líquidos) que se tomaron durante el periodo de tiempo seleccionado, que tengan resistencia a carbapenémicos, mediante la prueba Resisti Kit para

carbapenemasa positiva, y que en la caracterización tenga resultado positivo en el disco de AFB y negativo en el resto de discos.

Enterobacteria con expresión de Carbapemasa tipo B (M $\beta$ L):

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Variable cualitativa policotómica.

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier enterobacteria resistente a carbapenémico mediante mecanismo enzimático, con expresión de carbapenemasa del grupo B de Ambler, durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional: Será el desarrollo de enterobacterias en cualquiera de los cultivos (sangre, orina, secreciones, expectoración, líquidos) que se tomaron durante el periodo de tiempo seleccionado, que tengan resistencia a carbapenémicos, mediante la prueba Resisti Kit para carbapenemasa positiva, y que en la caracterización el resultado sea positivo en el disco de EDTA, y negativo en el resto de los discos.

Enterobacteria con expresión de Carbapenemasa tipo A con AmpC, posible presencia de AmpC con pérdida de porinas:

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Variable cualitativa policotómica.

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier Enterobacteria resistente a carbapenámicos mediante la expresión de carbapenemasa tipo A con AmpC, o AmpC con pérdida de porinas, durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional: Será el desarrollo de enterobacterias en cualquiera de los cultivos (sangre, orina, secreciones, expectoración, líquidos) que se tomaron durante el periodo de tiempo seleccionado, que tengan resistencia a carbapenémicos, mediante la prueba Resisti Kit para carbapenemasa positiva, y que en la caracterización tenga resultado positivo tanto en los discos de AFB como de Cloxacilina, y negativo en EDTA.

Pseudomonas con expresión de Carbapenemasa tipo A (KPC):

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Variable cualitativa nominal.

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier Pseudomonas con resistencia a carbapenémicos, cuyo mecanismo de acción sea enzimático, y con expresión de carbapenemasa grupo A de Ambler, durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional: Será el desarrollo de pseudomonas en cualquiera de los cultivos (sangre, orina, secreciones, expectoración, líquidos) que se tomaron durante el periodo de tiempo seleccionado, que tengan resistencia a carbapenémicos, mediante la prueba Resisti Kit para carbapenemasa positiva, y que en la caracterización tenga resultado positivo en el disco de AFB y negativo en el resto de discos.

Pseudomonas con expresión de Carbapemasa tipo B (MβL):

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Variable cualitativa nominal.

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier Pseudomonas con resistencia a carbapenémicos, cuyo mecanismo de acción sea enzimático, y con expresión de carbapenemasa grupo B de Ambler, durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional: Será el desarrollo de pseudomonas en cualquiera de los cultivos (sangre, orina, secreciones, expectoración, líquidos) que se tomaron durante el periodo de tiempo seleccionado, que tengan resistencia a carbapenémicos, mediante la prueba Resisti Kit para carbapenemasa positiva, y que en la caracterización el resultado sea positivo en el disco de EDTA, y negativo en el resto de los discos.

Pseudomonas con expresión de Carbapenemasa tipo A con AmpC, posible presencia de AmpC con pérdida de porinas:

Tipo de variable: Independiente.

Nivel de medición: Variable cualitativa nominal.

Definición conceptual: Cultivo que presente desarrollo de cualquier Pseudomonas con resistencia a carbapenémicos, mediante la expresión de carbapenemasa tipo A con AmpC, o AmpC con pérdida de porinas, durante el tiempo de desarrollo del estudio.

Definición operacional: Será el desarrollo de Pseudomonas en cualquiera de los cultivos (sangre, orina, secreciones, expectoración, líquidos) que se tomaron durante el periodo de tiempo seleccionado, que tengan resistencia a carbapenémicos, mediante la prueba Resisti Kit para carbapenemasa positiva, y que en la caracterización tenga resultado positivo tanto en los discos de AFB como de Cloxacilina, y negativo en EDTA.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

### **a. Estrategia de análisis estadístico:**

- Se realizará con ayuda del programa estadístico SPSS 20 para Windows. Los datos se presentan utilizando estadística descriptiva. Se realizó determinación de intervalos de confianza mediante cálculo de score de Wilson.

Las variables cualitativas se reportan como frecuencia y porcentaje; las variables cuantitativas se reportan como media y desviación estándar, cumpliendo con los supuestos de normalidad de acuerdo a la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

## **11. ASPECTOS ÉTICOS;**

- a. Se trata de un estudio retrospectivo donde se hace una revisión de los cultivos microbiológicos de 2 centros hospitalarios en la ciudad de León, Guanajuato, con la información de los pacientes a quienes se les realizan las tomas (sexo, edad, sitio de muestreo, diagnóstico presuntivo).
- b. Al tener dicho diseño de estudio confiere mínimo riesgo de afección a lo estipulado en las NOM-004-SSA3-2012 del expediente clínico, NOM-012-SSA3-2012 que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en humanos y en la Declaración de Helsinki de la AMM de los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos con última versión en 2013.
- c. El estudio no viola ninguna de las normas de la investigación clínica en humanos y se basa en el artículo 100 de la ley General de Salud en materia de Investigación para la salud.
- d. El estudio se presentó al Comité de Investigación del Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío siendo aprobado y registrado con el folio:

## **LOS PROTOCOLOS FINANCIADOS POR LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA DEBERÁN INDICAR LOS BENEFICIOS PARA LA INSTITUCIÓN. MENCIONE CUÁLES SON DE FORMA CONCISA:**

El estudio no será financiado por la industria, como se menciona previamente solo apoyará con los kits para detección de resistencia a carbapenémicos. La institución se beneficiará con la detección y caracterización de las enterobacterias y pseudomonas resistentes a carbapenémicos, lo cual ayudará a establecer el panorama de resistencia antimicrobiana en nuestro hospital, con información que permitirá implementar estrategias efectivas de tratamiento y prevención.

## RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 1793 aislamientos durante el plazo de un año (Julio 2018 a junio 2019), correspondiendo 839 de ellas al Hospital General León (HGL) y 954 al Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío (HRAEB).

Del universo estudiado en HRAEB, 2 especímenes no presentaron reporte de resistencia a carbapenémicos (indeterminado, ambos *Salmonella* sp). No hubo resultados indistintos respecto a la susceptibilidad a carbapenémicos en el muestro del HGL.

### CARACTERÍSTICAS DE POBLACIÓN EN HRAEB

Se dividieron los cultivos en 4 grandes familias, con el siguiente espectro de frecuencia: Hemocultivo n= 152 (15.9%), Urocultivo n= 401 (42%), Secreciones n= 315 (33%) y Líquidos n=86 (9%). La prevalencia de enterobacterias fue de n= 805 (84.3%) y de pseudomonas n= 149 (15.6%). Los microorganismos a su vez, en orden descendente de frecuencia (ver figura 1), fueron los siguientes: *Escherichia coli* en 492 ocasiones (51.6%), *Klebsiella* sp. en 182 ocasiones (19.1%), *Pseudomonas aeruginosa* en 149 casos (15.6%), *Enterobacter* en 43 ocasiones (4.5%), *Morganella* 27 ocasiones (2.8%), *Proteus* en 21 ocasiones (2.2%), *Serratia* en 20 ocasiones (2.1%), *Citrobacter* en 12 casos (1.3%), *Salmonella* en 7 ocasiones (0.7%) y *Providencia* en 1 ocasión (0.1%); no se detectó crecimiento de *Shigella*.

La mayoría de los hemocultivos presentaron desarrollo de *Escherichia coli* (n= 76 de 152, frecuencia 50%), seguido de *Klebsiella* sp. (n= 37, 24.3%), *Pseudomonas aeruginosa* (n= 24, 15.7%), *Enterobacter* (n=10, 6.5%), *Salmonella* (n=3, 1.9%), *Morganella* y *Citrobacter* (ambos con 1 aislamiento, 0.6% respectivamente).

Los urocultivos repitieron prevalencia predominante de *Escherichia coli* (n= 290 de 401, 72.3%), seguido de *Klebsiella* sp. (n= 59, 14.7%), *Pseudomonas* (n= 21, 4.2%), *Morganella* (n= 14, 3.4%), *Proteus* (n= 8, 1.9%), *Citrobacter* (n= 5, 1.2%), *Enterobacter* (n= 2, 0.4%) y *Providencia* y *Serratia* con 1 aislamiento cada uno (0.2%).

En secreciones se aislaron *Escherichia coli* (n= 97 de 315, 30.7%) y *Pseudomonas* (n= 90, 28.5%) con frecuencia semejante, seguidos de *Klebsiella* (n= 67, 21.2%), *Enterobacter* (n= 21, 6.6%), *Morganella* (n= 12, 3.8%), *Proteus* (n= 12, 3.8%), *Serratia* (n= 10, 3.17%), *Citrobacter* (n=5, 1.5%) y *Salmonella* n= 1 (0.3%).

En los líquidos el orden de frecuencia fue el siguiente: *Escherichia coli* (n= 29 de 86, 33.7%), *Klebsiella* (n= 19, 22%), *Pseudomonas* (n= 14, 16.2%), *Enterobacter* (n= 10, 11.6%), *Serratia* (n= 9, 10.4%), *Salmonella* (n= 3, 3.48%), *Citrobacter* y *Proteus* (n= 1 cada uno, 1.16% respectivamente).

### *Perfil de susceptibilidad microorganismos HRAEB*

Enterobacterias. Las cepas de *Escherichia coli* fueron resistentes a carbapenémicos en 1.23% (6 de los 492 aislamientos); *Morganella* tuvo igualmente 6 casos de resistencia, pero en menor número de aislamientos (27), para una prevalencia de 22.2%. Las cepas de *Klebsiella sp.* mostraron resistencia a carbapenémicos en 7.1% (13/182 casos); *Proteus* y *Serratia* presentaron en 2 ocasiones cada una, con prevalencias de 9.5% y 10% respectivamente; *Enterobacter* solo reportó una resistencia de las 43 muestras (2.3%); mientras que *Citrobacter*, *Providencia* y *Salmonella* fueron cepas 100% sensibles a carbapenémicos (Ver figura 2).

Globalmente, las enterobacterias como familia mostraron una prevalencia de resistencia de 3.7% (30 de 805 muestras).

Pseudomonas. Dicha proporción de susceptibilidad se muestra distinta en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. De las 149 muestras, 71 fueron sensibles y 78 resistentes a por lo menos uno de los dos carbapenémicos con actividad antipseudomonas disponibles en el hospital, con una prevalencia de resistencia dentro de este género del 52.3%. Debido a la alta prevalencia, desglosamos la frecuencia de la misma por tipo de cultivo, encontrando lo siguiente: 43 de las 78 colonias resistentes se aislaron en secreción (frecuencia de 55.1%); 13 de 78 en urocultivos (16.6%); 12 de 78 en hemocultivos (frecuencia 15.3%) y 10 de 78 en líquidos, (12.8%). Una manera de presentar esta información, que otorgue relevancia clínica a la hora de tomar decisiones es la siguiente: ante un hemocultivo positivo con desarrollo de *Pseudomonas*, la probabilidad pre prueba de resistencia a carbapenémicos es del 50% (n= 12/24); en urocultivos es del 61.9% (n= 13/21), en secreciones 47.7% (n= 43/90) y en líquidos 71.4% (n= 10/14).

### *Resistencia a carbapenémicos -por cultivo- en Enterobacterias y Pseudomonas*

Extrapolando la resistencia a carbapenémicos global de acuerdo al tipo de cultivo, encontramos que *Líquidos* presenta la mayor prevalencia de resistencia con un 19.7% (17/86) -ver tabla-; en segundo lugar, *Secreciones* (úlceras, heridas, expectoración, aspirado traqueal) con un 16.5% (52/315); tercero, *Hemocultivos*, con una prevalencia de 13.8% (21/152); y finalmente *Urocultivos*, con 4.48% (18/401).

### *Resistencia a carbapenémicos y caracterización del mecanismo*

De los 954 aislamientos captados en el HRAEB durante 1 año, 108 presentaron resistencia a por lo menos 1 carbapenémico activo para la cepa correspondiente. La prevalencia global de resistencia fue 11.3% (95% IC, 9.4%-13.4%)

21 de las 108 colonias resistentes mostraron un mecanismo de inactivación mediado por enzimas (19.4%, ver tabla); en contraparte, 54 tuvieron un resultado negativo, sugiriendo otro mecanismo

(porinas, porcentaje de 50%). Los 33 microorganismos restantes no recibieron prueba para determinar el mecanismo de resistencia (30.6%). Finalmente, detectamos 4 cepas productoras de metalobetalactamasas (19% de las 21 muestras con inactivación enzimática) y 2 productoras de AmpC (9.5%); el resto presentaron un mecanismo no identificado por ResistiKit o Carba NP (15/21, 71.4%) –figura 3-.

#### *Susceptibilidad a nuevos fármacos inhibidores y Colistina*

En microorganismos resistentes a carbapenémicos, se realizaron pruebas de susceptibilidad para Ceftolozano/Tazobactam (C/T) en 65 muestras y en 48 para Ceftazidima/Avibactam (CZA). En el primer caso, el resultado demostró sensibilidad en 25 de 65 (38.4% de las cepas; 95% IC, 27.6%-50.6%); resistencia en 28 de 65 (43%; 95% IC, 31.7%-55.1%), intermedio en 2/65 (3%), y no reporte en 10/65 (15.3%); específicamente, la sensibilidad de *Pseudomonas* a esta combinación de betalactámico/inhibidor: 40% (20 de 49 casos); en *E. Coli* fue 25% (1/4); y en *Klebsiella* 44% (4/9).

El segundo betalactámico + inhibidor (CZA) mostró actividad en 26 de 48 pruebas realizadas (susceptibilidad 54% global; 95% IC, 40.2%-67.4%), resistencia en 16 de 48 (33.3%; 95% IC, 21.6%-47.4%), y no reportado en 6/48 (12.5%); no hubo resultados intermedios. La sensibilidad en *Pseudomonas* fue de 57.5% (19 de 33 casos); *Klebsiella* 75% (6/8) y *E. Coli* 25% (1/4).

Colistina mostró una actividad in vitro más elevada en 48 pruebas: 45 (93.7%; 95% IC, 83.1%-97.8%) sensibles, resultado similar en el género *Pseudomonas* (93.1%, 41 de 44); *E. Coli* y *Klebsiella* fueron 100% susceptibles con 1 y 3 casos respectivamente.

#### CARACTERÍSTICAS DE POBLACIÓN EN HGL

Los cultivos se dividieron en 6 grandes categorías, con la siguiente frecuencia de aparición: Urocultivo 317 de 839 (37.8%), secreciones 209 de 839 (24.9%), expectoración 185 de 839 (22.1%), líquido 79 de 839 (9.4%), hemocultivo 44 de 839 (5.2%) y tejido y hueso 5 casos (0.6%). La prevalencia de enterobacterias fue de n= 699 (83.3%) y de *pseudomonas* n= 140 (16.7%).

Entre las enterobacterias, *Escherichia coli* fue el desarrollo más prevalente con 53.9% de los casos (452 de 839), seguido de *Klebsiella sp* en 14.7% (123 de 839), *Proteus* 3.9% (33 de 839), *Enterobacter* 3.6% (30 de 839), *Morganella* 2.7% (23 de 839), *Citrobacter* 2.1% (18 de 839), *Serratia* 1.7% (14 de 839), *Salmonella* 0.6% (5 de 839) y *Providencia* en una ocasión (0.1%); no se aislaron colonias de *Shigella* (figura 4).

En hemocultivos, *Escherichia coli* se aisló en 20 de 44 casos (45.4%); *Klebsiella* sp. y *Pseudomonas* en 8/44 cada uno (18.1% y 18.1%); *Citrobacter* (4.5%), *Enterobacter* (4.5%), *Salmonella* (4.5%) en 2 ocasiones respectivamente; y *Morganella* (2.2%) y *Proteus* (2.2%) 1 ocasión.

En urocultivos, *Escherichia coli* se aisló en 76.6% (243 de 317), *Klebsiella* sp. en 7.8% (25 casos), *Pseudomonas aeruginosa* en 6.3% (20), *Proteus* 3.4% (11), *Enterobacter* 2.2% (7 ocasiones), *Morganella* 1.89% (6), *Citrobacter* 0.9% (3) y *Salmonella* 0.6% (2).

Secreciones mostró *Escherichia coli* 54.5% (114 de 209 casos), *Pseudomonas aeruginosa* 14.3% (30/209), *Klebsiella* sp 10% (21/209), *Proteus* 7.6% (16), *Morganella* 6.6% (14/209), *Enterobacter* 3.3% (7/209), *Citrobacter* 2.3% (5/209), *Providencia* y *Serratia* en una ocasión (0.4% y 0.4%).

Líquidos continuó mostrando el predominio de *Escherichia coli* en 54.4% (43 de 69 casos); *Klebsiella* sp. 24% (19 de 79), *Pseudomonas aeruginosa* 10% (8/79), *Proteus* y *Serratia* en 3.79% (3/79) respectivamente y *Enterobacter*, *Morganella*, *Salmonella* con un solo aislamiento (1.2%).

La prevalencia se modifica en expectoraciones, donde 38.3% son *Pseudomonas* (71 de 185), *Klebsiella* 26.4% (49/185), en tercer lugar *E. Coli* con 17.2% (32/185); complementan *Enterobacter* 6.4% (12/185), *Serratia* 5.4% (10/185), *Citrobacter* 4.32% (8/185), *Proteus* 1% (2) y *Morganella* 0.5% (1).

Tejidos y hueso mostraron solo desarrollo de *Pseudomonas* (3 casos), *Enterobacter* (n= 1) y *Klebsiella* (n=1) –figura 5-.

#### *Perfil de susceptibilidad a carbapenémicos en muestras de HGL*

124 de los 839 aislamientos captados en el HGL durante el año de recolección fueron resistentes a por lo menos 1 carbapenémico activo para la cepa correspondiente. Prevalencia global de resistencia fue 14.8% (95% IC, 12.5%-17.3%)

El microorganismo con mayor prevalencia de resistencia a carbapenémicos fue *Morganella* con un 78.2% (n= 18 / 23), le continúan *Pseudomonas aeruginosa* con 44.2% (n= 62 / 140), *Serratia* 42.8% (n= 6 / 14), *Enterobacter* 26.6% (n= 8 / 30) y *Proteus* 24.2% (n= 8 / 33) con tasas de resistencia >10%. Completan el cuadro *Citrobacter* 5.8% (n= 1 / 17), *Klebsiella* sp 4.8% (n= 6 / 123) y *E. Coli* con 3% (n= 14 / 452). *Providencia* mostró solo un aislamiento, siendo el mismo resistente a carbapenémicos. Las cepas de *Salmonella* fueron todas sensibles (n= 0 / 5).

La resistencia a carbapenémico por tipo de cultivo fue 0% en tejido y hueso (n= 0 / 5); 8.8% en líquidos (n= 7 / 79), 10.4% en urocultivos (n= 33 / 317), 13.6% en hemocultivos (n= 6 / 44), 13.8% en secreciones (n= 29 / 209), y con mayor prevalencia, 26.4% en expectoraciones (n= 49 / 185).

Finalmente, 2 de los 6 grandes grupos de cultivos en el HGL se consideraron cultivos críticos (Hemocultivos y Líquidos), por lo que se realizó análisis descriptivo de la prevalencia de resistencia a carbapenémicos por tipificación de microorganismo:

En el caso de hemocultivos, 100% de *Morganella* (1 / 1) tuvo resistencia; y 50% de *Pseudomonas* (4 / 8) y *Enterobacter* (1 / 2) no fueron sensible a carbapenémicos; el resto de las cepas no desarrolló resistencia en este medio de cultivo.

En líquidos, 66% de *Serratia* (n= 2 / 3), 37.5% de *Pseudomonas aeruginosa* (n= 3 / 8), 2.3% de *E. Coli* y 100% de *Morganella* (n= 1 / 1) presentaron resistencia.

#### *Susceptibilidad a nuevos fármacos inhibidores y Colistina*

No se realizaron pruebas a Ceftolozano/Tazobactam o Ceftazidima/Avibactam en muestras resistentes a carbapenémicos en HGL.

De estos aislamientos, se montó panel de susceptibilidad a Colistina a 45 de las 124 (36.3%), con especímenes potencialmente susceptibles en 20 ocasiones (*E. Coli* n= 1, *Pseudomonas* n= 16 y *Enterobacter* n=3). La sensibilidad global fue de n= 19/20 (95%; 95% IC, 76.3%-99.1%).

## **DISCUSIÓN**

Nuestro estudio tuvo los objetivos de determinar la prevalencia de resistencia a carbapenémicos, los patrones de susceptibilidad a fármacos considerados de última línea y la relación de estos datos con el tipo de cultivo realizado en poblaciones de enterobacterias y *pseudomonas* de los 2 hospitales públicos con mayor población hospitalaria en la ciudad de León, Guanajuato. De la misma manera, caracterizamos la frecuencia de aislamiento de cada una de las especies dentro de la familia de enterobacterias y *pseudomonas*. Durante el lapso de un año fuimos capaces de recolectar 1793 aislamientos. La mayor parte correspondieron a cultivos de orina (718), con un porcentaje global de 40%. El resto de las muestras del HGL se dividieron en hemocultivos, líquidos, tejidos/hueso, secreciones y expectoraciones/aspirados traqueales, mientras que en el HRAEB se incluyeron tanto a los tejidos y expectoraciones en el grupo de secreciones.

La prevalencia final de resistencia a carbapenémicos en los 2 centros hospitalarios fue de 13%, con una proporción muy similar en ambas instituciones (11.3% y 14.8%).

Sin embargo es importante desglosar esta información en las 2 grandes familias de bacterias implicadas: En el rubro de enterobacterias encontramos una resistencia de 3.7% en el HRAEB, siendo esto similar a lo reportado por Gupta et al<sup>50</sup>, donde los aislamientos no duplicados de enterobacterias CarbaResistentes fue de 1.2% (3,758 de 314,904 muestras en pacientes

hospitalizados) y sobre todo al estudio por Rizzo et al<sup>51</sup>, que analizó muestras de enterobacterias asociadas a los cuidados hospitalarios –contexto similar a los pacientes de nuestro hospital-, con una tasa de CarbaR en 3.2%. Contrastan ambos resultados con lo encontrado en HGL, donde en el 8.8% de los casos encontramos aislamientos CarbaR entre enterobacterias.

La prevalencia de CarbaR en *Pseudomonas* fue mucho más elevada, y asemeja lo reportado en series latinoamericanas anteriores por Unal et al<sup>52</sup>, donde la %S de *Pseudomonas* susceptibles a meropenem/imipenem fue 57% y 52% respectivamente. En nuestra muestra encontramos una %S a ambos carbapenémicos en 55.7% en el HGL y 47.6% en el HRAEB. Estos datos contrastan desfavorablemente con la literatura reportada en el primer mundo, donde la %S a meropenem e imipenem es de 89% y 85% en USA, y 76%/70% en Europa; pero a su vez guarda concordancia con lo observado en el borde Asia-Pacífico (58% susceptibilidad a Meropenem<sup>53</sup>), lo que sugiere una mayor virulencia de *Pseudomonas* en el contexto hospitalario de los países en vías de desarrollo.

La elevada morbilidad y mortalidad asociadas a infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* se incrementan gracias al desarrollo de resistencias altas a las opciones terapéuticas actuales, y por la falta de opciones farmacológicas con buen perfil de seguridad en la práctica diaria. En ese aspecto, nuestro estudio evaluó la tasa de susceptibilidad en cepas de *Pseudomonas* CarbaR a los fármacos inhibidores de segunda generación (Ceftolozano/Tazobactam y Ceftazidima/Avibactam) y a antimicrobianos tradicionales cuyo uso no es de primera línea por la alta frecuencia de toxicidad.

En las pruebas de susceptibilidad realizadas, menos del 50% de todas las muestras fueron sensibles *in vitro* a Ceftolozano/Tazobactam (C/T); este hallazgo fue general tanto para enterobacterias como para *Pseudomonas*. Esto contrasta notablemente con los resultados de Gallagher et al<sup>54</sup>, quien encontró una susceptibilidad de 125/139 (89.9%) en aislamientos de *Pseudomonas* resistentes MDR, en un estudio multicéntrico, retrospectivo y observacional en 20 unidades de salud de USA. Y a la vez encontramos mejor perfil de actividad comparado con el estudio latinoamericano más grande realizado a la fecha (Pfaller et al<sup>55</sup>, realizado en México, Argentina y Brasil, 2415 muestras consecutivas) donde la actividad de C/T fue testimonial contra cepas CarbaR de enterobacterias (S 1.6%).

Por su parte, Ceftazidima/Avibactam (CZA) superó la media de susceptibilidad en las muestras, pero por el mínimo (54%), siendo más efectiva en los aislamientos que correspondían a *Klebsiella* (75%). Si bien los primeros estudios que evaluaron la eficacia de CZA no se realizaron específicamente en enterobacterias resistentes a carbapenémicos<sup>56,57</sup>, van Duin et al<sup>58</sup> condujeron una investigación prospectiva donde el 96% (23/24) de los aislamientos donde se realizó prueba de susceptibilidad a CZA fueron susceptibles. Sin embargo, los autores mencionan la necesidad de confirmar tales conclusiones en un ensayo clínico aleatorizado.

La baja susceptibilidad reportada en nuestro estudio se puede explicar por el hecho de que C/T y CZA -en conjunto- no poseen actividad antimicrobiana contra organismos gram-negativos productores de carbapenemasas clase B, y que C/T tampoco guarda espectro de acción contra las bacterias productoras de carbapenemasa tipo A<sup>59</sup>. Por lo tanto, inferimos una preponderancia de microorganismos productores de KPC y metalobetalactamasas en nuestra cohorte, que no pudieron identificarse por los medios fenotípicos disponibles.

Al ser un estudio de carácter retrolectivo, se perdió la oportunidad de aplicar el kit de resistencia (Resisti-Kit) en todas las colonias aisladas. Muchas de estas muestras tenían sensibilidad a otras clases de antimicrobianos, por lo que se contaban con opciones terapéuticas alternativas a beta lactámicos y no se priorizó la caracterización de resistencia a carbapenémicos. Sin embargo, nuestros resultados denotan la necesidad apremiante de solicitar pruebas de caracterización fenotípica o molecular en todo aislamiento resistente a carbapenémico de aquí en adelante, pues las implicaciones terapéuticas son inmediatas (por ejemplo, un hallazgo de organismo gram negativo productor de carbapenemasa clase A o clase D podría acelerar la toma de decisiones, favoreciendo la indicación de CZA sobre otras opciones).

Finalmente, llama la atención la distribución de resultados en nuestro estudio, ya que, contrario a la creencia general, se cuantificó una mayor cantidad de muestras en el HRAEB en comparación con el centro de referencia histórico de la región, el HGL. Esto puede deberse a 2 circunstancias principales:

1) durante los últimos años el HRAEB ha aumentado el número de pacientes que atiende por servicio –secundario a una mayor oferta de servicios y aumento en la matrícula de personal operativo-, además de que gran parte de esta población no es la misma que se observó durante los primeros años de vida de nuestra institución –donde originalmente los pacientes acudían a recibir atención específica y se contrarreferían-, sino que se ha evolucionado a una cohorte bien establecida donde los tratamientos sistémicos y oncológicos generan múltiples reingresos y seguimiento/vigilancia durante un largo periodo de tiempo. Esto mismo va relacionado a

2) la población tiene un perfil distinto a otras instituciones de la región (y del país), siendo la gran mayoría de nuestro universo pacientes inmunocomprometidos por varios factores. Entre ellos destacan el efecto secundario de los tratamientos citotóxicos (nadir de quimioterapia), las mismas enfermedades oncológicas, los padecimientos autoinmunes y tratamientos inmunosupresores durante el cuidado post trasplante, por mencionar algunos. Esto en consecuencia los predispone a un mayor número de infecciones oportunistas que en otras unidades no se llegan a detectar ni sospechar.

Además, es importante recordar que nuestro estudio se basó solamente en recolección de enterobacterias y pseudomonas, omitiendo otros microorganismos altamente frecuentes en medios hospitalarios ajenos al nuestro, como *Acinetobacter* spp, entre otros.

## **CONCLUSIONES**

Nuestro trabajo refuerza la evidencia reciente respecto al aumento de resistencia hacia carbapenémicos en microorganismos gram negativos en el medio hospitalario. Igual como sucedió con el surgimiento de las enterobacterias productoras de beta lactamasas de espectro extendido (BLEEs), nos encontramos nuevamente ante una amenaza global para la cual aún no desarrollamos una defensa farmacológica ideal. Gracias a la información recabada en este protocolo, ahora tenemos una idea clara sobre el panorama actual en la ciudad de León Guanajuato respecto a este problema. Esperamos que con este trabajo sensibilizemos al personal de la salud sobre el siguiente paso es realizar: una caracterización global de estos aislamientos carbapenémicos resistentes, tests de susceptibilidad tanto a antimicrobianos nuevos como antiguos y medidas de prevención en nuestra práctica diaria.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. O. Nolte, 2014, 'Antimicrobial Resistance in the 21st Century: A Multifaceted Challenge', *Protein & Peptide Letters*, vol. 21, no. 4, pp. 330-335
2. Maurizio Ferri, Elena Ranucci, Paola Romagnoli, Valerio Giaccone, 2015, 'Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 57, no. 13, pp. 2857-2876
3. Mohsen Arzanlou, Wern Chern Chai, Henrietta Venter, 2017, 'Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria', *Essays In Biochemistry*, vol. 61, no. 1, pp. 49-59
4. Butler, M.S., Blaskovich, M.A. and Cooper, M.A. (2017) Antibiotics in the clinical pipeline at the end of 2015. *J. Antibiot. (Tokyo)* 70, 3–24
5. Ling, L.L., Schneider, T., Peoples, A.J., Spoering, A.L., Engels, I., Conlon, B.P. et al. (2015) A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 517, 455–459
6. Walsh TR, Weeks J, Livermore DM, Toleman MA. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis.* 2011;11(5):355-362
7. Walters MS, Witwer M, Lee YK, et al. Notes from the field: carbapenemase-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from less common Enterobacteriaceae genera—United States, 2014-2017.
8. David P Nicolau, 2008, 'Pharmacodynamic optimization of  $\beta$ -lactams in the patient care setting', *Critical Care*, vol. 12, no. Suppl 4, p. S2
9. Bonomo RA, Burd EM, Conly J, Limbago BM, Poirel L, Segre JA, Westblade LF. Carbapenemase-producing organisms: A global scourge. *Clin Infect Dis.* 2017;Oct 16
10. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. CLSI supplement M100, 28th Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
11. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20:440–58, table of contents.
12. Klevens RM, Edwards JR, Gaynes RP, National Nosocomial Infections Surveillance System. The impact of antimicrobial resistant, health care-associated infections on mortality in the United States. *Clin Infect Dis* 2008;47:927e30.
13. Tam VH, Chang KT, LaRocco MT, Schilling AN, McCauley SK, Poole K, et al. Prevalence, mechanisms, and risk factors of carbapenem resistance in bloodstream isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;58:309e14.

14. Barry G. Hall, Miriam Barlow, 2005, 'Revised Ambler classification of  $\beta$ -lactamases', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 55, no. 6, pp. 1050-1051
15. Kim JY, Jung HI, An YJ, et al. Structural basis for the extended substrate spectrum of CMY-10, a plasmid-encoded class C beta-lactamase. *Mol Microbiol* 2006; 60:907–16.
16. Y J Yang, P J Wu, D M Livermore, 1990, 'Biochemical characterization of a beta-lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates.', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 34, no. 5, pp. 755-758
17. Naas T, Bonnin RA, Cuzon G, Villegas MV, Nordmann P. Complete sequence of two KPC-harboring plasmids from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68:1757–62.
18. K. Bush, G. A. Jacoby, 2009, 'Updated Functional Classification of - Lactamases', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 54, no. 3, pp. 969-976
19. Stefano Gaiarsa, Francesco Comandatore, Paolo Gaibani, Marta Corbella, Claudia Dalla Valle, Sara Epis, Erika Scaltriti, Edoardo Carretto, Claudio Farina, Maria Labonia, Maria Paola Landini, Stefano Pongolini, Vittorio Sambri, Claudio Bandi, Piero Marone, Davide Sasseria, 2014, 'Genomic Epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* in Italy and Novel Insights into the Origin and Global Evolution of Its Resistance to Carbapenem Antibiotics', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 59, no. 1, pp. 389-396
20. Laurent Poirel, Johann D Pitout, Patrice Nordmann, 2007, 'Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences', *Future Microbiology*, vol. 2, no. 5, pp. 501-512
21. Timothy Palzkill, 2012, 'Metallo- $\beta$ -lactamase structure and function', *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1277, no. 1, pp. 91-104
22. Lim HM, Pene JJ, Shaw RW. Cloning, nucleotide sequence, and expression of the *Bacillus cereus* 5/B/6  $\beta$ -lactamase structural gene. *J. Bacteriol.* 1988; 170:2873–2878.
23. Walsh TR, Hall L, Assinder SJ, Nichols WW, Cartwright SJ, MacGowan AP, Bennett PM. Sequence analysis of the L1 metallo- $\beta$ -lactamase from *Xanthomonas maltophilia*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1994; 1218:199–201
24. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, Rossolini GM. Cloning and characterization of bla VIM, a new integron-borne metallo-  $\beta$ -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43:1584–90.
25. Patel G, Bonomo RA. "Stormy waters ahead": global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol* 2013; 4:1–17
26. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- $\beta$ -lactamases: a last frontier for  $\beta$ -lactams? *Lancet Infect Dis* 2011; 11:381–93.
27. Yong D, Toleman MA, Giske CG, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic

- structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(12):5046–5054
28. Zhihai Liu, Jiyun Li, Xiaoming Wang, Dejun Liu, Yuebin Ke, Yang Wang, Jianzhong Shen, 2018, 'Novel Variant of New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase, NDM-20, in *Escherichia coli*', *Frontiers in Microbiology*, vol. 9
  29. Poirel L, Lagrutta E, Taylor P, Pham J, Nordmann P. Emergence of metallo-beta-lactamase NDM-1-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* in Australia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54(11):4914–4916.
  30. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:147-51.
  31. H Ito, Y Arakawa, S Ohsuka, R Wacharotayankun, N Kato, M Ohta, 1995, 'Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene blaIMP among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*.', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 39, no. 4, pp. 824-829
  32. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, Rossolini GM. Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1584-90
  33. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005;18:306-25.
  34. H. M. Donald, W. Scaife, S. G. B. Amyes, H.-K. Young, 2000, 'Sequence Analysis of ARI-1, a Novel OXA beta -Lactamase, Responsible for Imipenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 44, no. 1, pp. 196-199
  35. L. Poirel, C. Heritier, V. Tolun, P. Nordmann, 2003, 'Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in *Klebsiella pneumoniae*', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 48, no. 1, pp. 15-22
  36. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:1597–606.
  37. Banerjee R, Humphries R. Clinical and laboratory considerations for the rapid detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Virulence.* 2017;8(4):427-439.
  38. CLSI. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.* 28th ed. CLSI supplement M100, 28th Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
  39. Lahiri SD, Johnstone MR, Ross PL, McLaughlin RE, Olivier NB, Alm RA. Avibactam and class C b-lactamases: mechanism of inhibition, conservation of the binding pocket, and implications for resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:5704-13;
  40. Lucasti C, Popescu I, Ramesh MK, Lipka J, Sable C. Comparative study of the efficacy and

- safety of ceftazidime-avibactam plus metronidazole versus meropenem in the treatment of complicated intra-abdominal infections in hospitalized adults: results of a randomized, double-blind, Phase 2 trial. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68:1183-92;
41. Vazquez JA, Gonzalez Patzan LD, Stricklin D, Duttaroy DD, Kreidly Z, Lipka J, Sable C. Efficacy and safety of ceftazidime-avibactam versus imipenem-cilastatin in the treatment of complicated urinary tract infections, including acute pyelonephritis, in hospitalized adults: results of a prospective, investigator-blinded, randomized study. *Curr Med Res Opin* 2012; 28:1921-31;
  42. Antoni Torres, Nanshan Zhong, Jan Pachi, Jean-François Timsit, Marin Kollef, Zhangjing Chen, Jie Song, Dianna Taylor, Peter J Laud, Gregory G Stone, Joseph W Chow, 2018, 'Ceftazidime-avibactam versus meropenem in nosocomial pneumonia, including ventilator-associated pneumonia (REPROVE): a randomised, double-blind, phase 3 non-inferiority trial', *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 18, no. 3, pp. 285-295
  43. Zhanel GG, Karlowsky JA, Rubinstein E, Hoban DJ. Tigecycline: a novel glycolcycline antibiotic. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006; 4:9-25;
  44. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis*. 2006;6(9):589–601
  45. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 7.1, 2017. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.
  46. Kelesidis T, Falagas ME. The safety of polymyxin antibiotics. *Expert Opin Drug Saf*. 2015;14:1687–1701
  47. Karaiskos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15:1351–1370
  48. Ghady Haidar, Nathan J Philips, Ryan K Shields, Daniel Snyder, Shaoji Cheng, Brian A Potoski, Yohei Doi, Binghua Hao, Ellen G Press, Vaughn S Cooper, Cornelius J Clancy, M Hong Nguyen, 2017, 'Ceftolozane-Tazobactam for the Treatment of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Infections: Clinical Effectiveness and Evolution of Resistance', *Clinical Infectious Diseases*, vol. 65, no. 1, pp. 110-120
  49. Christopher Crist, Richard Winn, Kristen Fuhrmann, Alanna Emrick, 2016, 'Susceptibility Profiles of Ceftolazane-Tazobactam (C-T) and Ceftazidime-Avibactam (CZA) Against Isolates of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*', *Open Forum Infectious Diseases*, vol. 3, no. suppl\_1
  50. Gupta V, Ye G, Olesky M, Lawrence K, Murray J, Yu K. National prevalence estimates for resistant Enterobacteriaceae and Acinetobacter species in hospitalized patients in the United States. *International Journal of Infectious Diseases*. 2019; 85:203-211.

51. Rizzo K, Horwich-Scholefield S, Epton E. Carbapenem and Cephalosporin Resistance among Enterobacteriaceae in Healthcare-Associated Infections, California, USA. *Emerg Infect Dis*. 2019;25(7):1389-93.
52. Unal S, Garcia-Rodriguez JA. Activity of meropenem and comparators against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. isolated in the MYSTIC Program, 2002-2004. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 53:265–71
53. Bertrand X, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among gram-negative isolates collected from intensive care units in North America, Europe, the Asia-Pacific Rim, Latin America, the Middle East, and Africa between 2004 and 2009 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *Clin Ther* 2012; 34:124–37.
54. Gallagher JC, Satlin MJ, Elabor A, Saraiya N, McCreary EK, Molnar E, El-Beyrouy C, Jones BM, Dixit D, Heil EL. Ceftolozane-Tazobactam for the Treatment of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Infections: A Multicenter Study. *Open Forum Infect Dis* 2018; 5(11): 1-5.
55. Pfaller MA, Shortridge D, Sader HS, Gales A, Castanheira M, Flamm RK. Ceftolozane-tazobactam activity against drug-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* causing healthcare-associated infections in Latin America: report from an antimicrobial surveillance program (2013–2015). *Braz J Infect Dis* 2017; 21(6):627-637.
56. Lucasti C, Popescu I, Ramesh MK, Lipka J, Sable C. Comparative study of the efficacy and safety of ceftazidime/avibactam plus metronidazole versus meropenem in the treatment of complicated intra-abdominal infections in hospitalized adults: results of a randomized, double-blind, Phase II trial. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68(5):1183-92
57. Vazquez JA, González Patzán LD, Stricklin D, Duttaroy DD, Kreidly Z, Lipka J, Sable C. Efficacy and safety of ceftazidime–avibactam versus imipenem–cilastatin in the treatment of complicated urinary tract infections, including acute pyelonephritis, in hospitalized adults: results of a prospective, investigator-blinded, randomized study. *Curr Med Res Opin* 2012;28(12):1921-3.
58. van Duin D, Lok JJ, Earley M, Cober E, Richter SS, Perez F, Salata RA, Kalayjian RC, Watkins RR, Doi Y. Colistin Versus Ceftazidime-Avibactam in the Treatment of Infections Due to Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *Clin Infect Dis* 2018; 66(2):163-71.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI AST News Update. Hindler JA, Schuetz AN, editors. 2018; 3(2):1-19

## ANEXO. GRÁFICOS

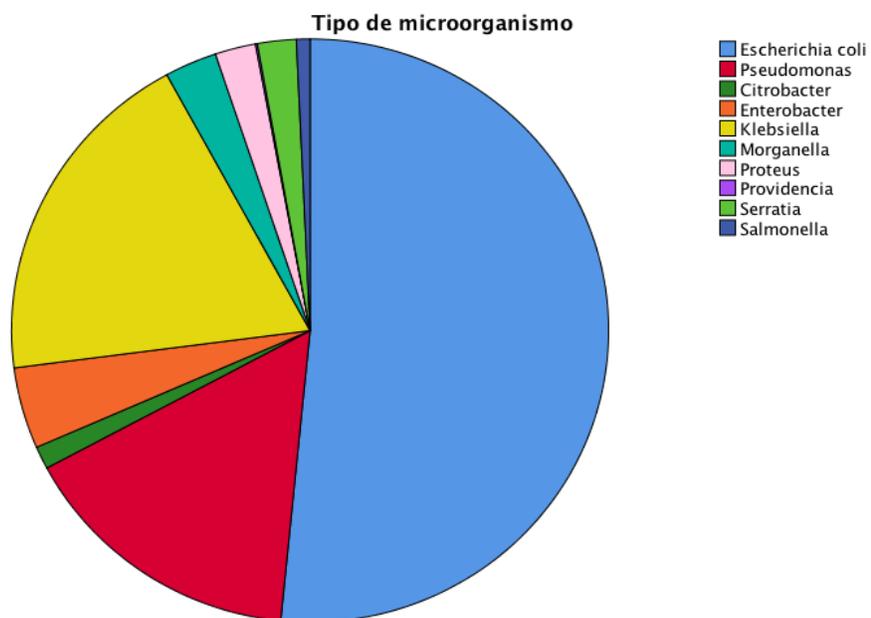


Figura 1. Porcentaje de aislamiento en enterobacterias y Pseudomonas en el Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío

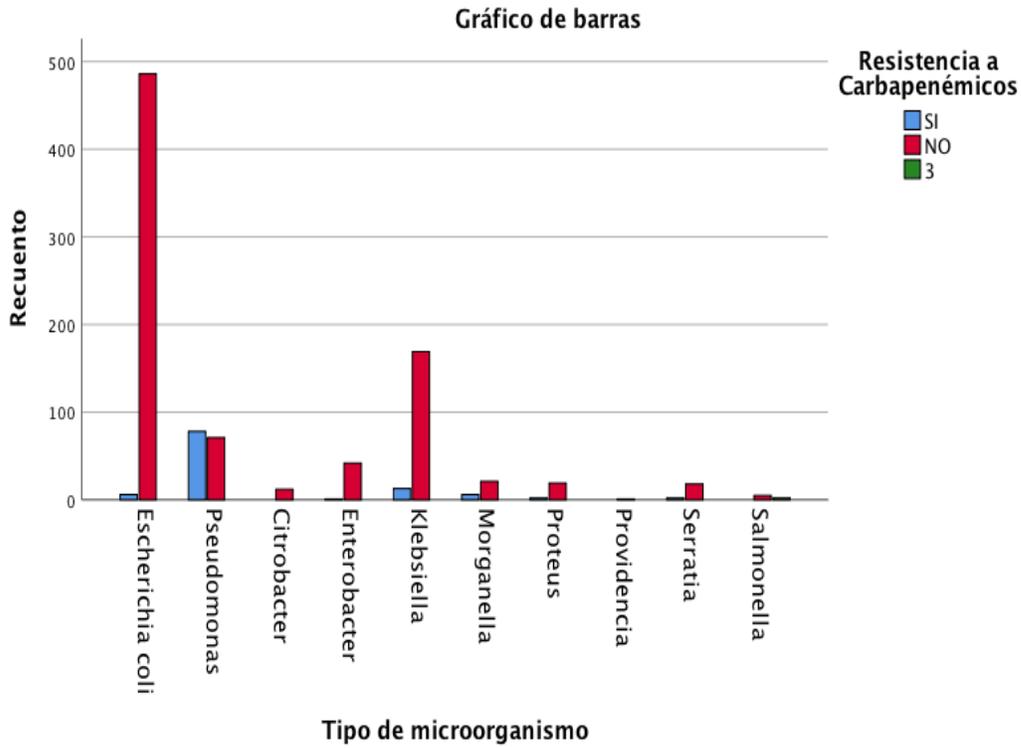


Figura 2. Prevalencia de microorganismos y su susceptibilidad a carbapenémicos en HRAEB

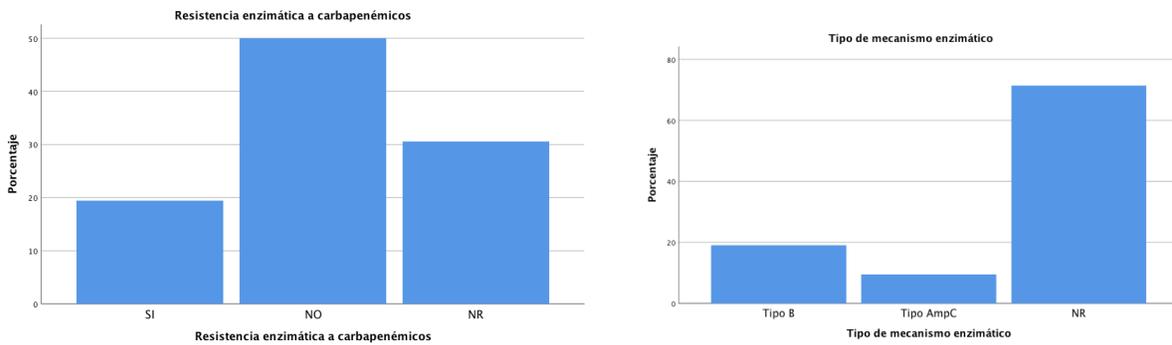


Figura 3. Resistencia a Carbapenémicos y caracterización del mismo en HRAEB.

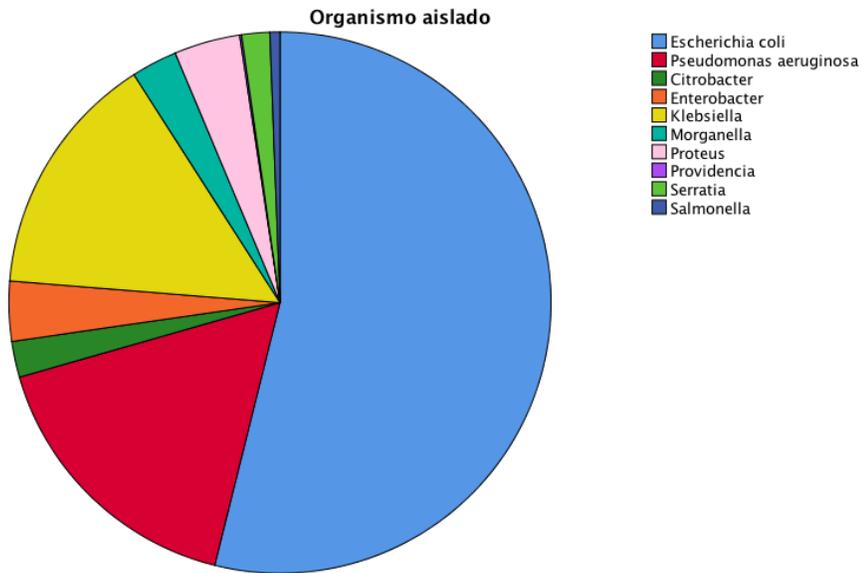


Figura 4. Porcentaje de aislamiento en enterobacterias y Pseudomonas en el Hospital General León

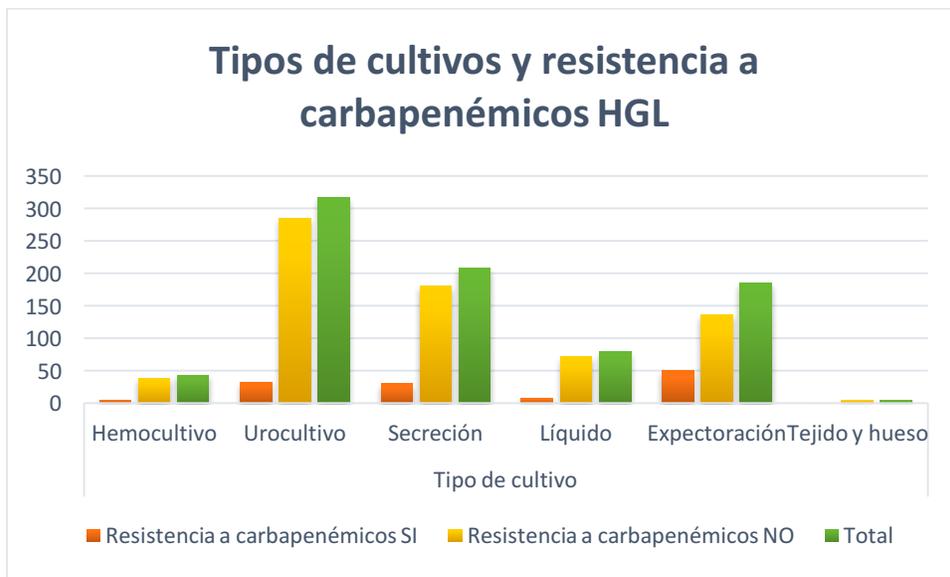


Figura 5. Resistencia a carbapenémicos por tipo de cultivo en HGL.