

UNIVERSIDAD DE SEVILLA



BACTERIEMIAS POR
ENTEROBACTERIAS
PRODUCTORAS DE
CARBAPENEMASAS:
ALTERNATIVAS
TERAPÉUTICAS
TESIS DOCTORAL

Elena Salamanca Rivera



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Microbiología

Dr. D. Jesús Rodríguez Baño, Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla y Dra. Dña. Marina de Cueto López, Profesor Asociado CIS del Departamento de Microbiología de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICAN:

Que la tesis para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla que lleva por título "Bacteriemias por enterobacterias productoras de carbapenemasas: alternativas terapéuticas." ha sido realizada por Dña. Elena Salamanca Rivera bajo nuestra supervisión, considerando que reúne los requisitos necesarios para su presentación.

Y para que conste donde proceda firmamos el presente certificado en Sevilla a 26 de abril de 2017.

Fdo. Dr. D. Jesús Rodríguez Baño

Dra. Dña. Marina de Cueto López

AGRADECIMIENTOS

A Marina y a Jesús, por ser los mejores directores de tesis que se puede tener:

A Marina por compartir sus amplios conocimientos microbiológicos en materia de bacteriemias, el diagnóstico y el tratamiento de las mismas...y ponerlo a disposición de mi trabajo, estando siempre dispuesta a ayudarme. Ojalá algún día pueda estar a tu altura.

A Jesús, por su extenso conocimiento en investigación biomédica, su mente privilegiada para el análisis de datos bajo la perspectiva siempre de la práctica clínica real, lo cual no es fácil y es de admirar, y por su sencillez y cercanía a la hora de transmitir dichos conocimientos para plasmarlos en mi estudio. Nunca dejas de sorprenderme.

A Álvaro, por pensar en mí para la realización este trabajo y animarme a ello.

A Belén...la práctica totalidad de lo que en este trabajo se redacta es gracias a ella...no se puede plasmar en estas líneas la magnitud de su ayuda, nada hubiera sido posible sin ella. Estaré siempre en deuda contigo, amiga. Sólo la palabra *infinito* describiría hasta donde llega mi agradecimiento hacia ti, y quizás se quede corta. GRACIAS BELÉN.

A mis compañeros de trabajo, en todos y cada uno de los sitios por los que he pasado, por formar parte de mi realización personal vocacional por la Medicina, la que yo entiendo, un equipo en el que todo suma, siempre por y para el paciente.

A mis familiares y amigos, simplemente por eso.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	5
INDICE.....	7
ABREVIATURAS.....	11
INTRODUCCIÓN.....	13
1. RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS	14
1.1. BETALACTAMASAS	14
1.2. CARBAPENEMASAS. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN.	15
1.3. TIPOS DE CARBAPENEMASAS Y EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR	16
1.4. RESERVORIOS Y MECANISMOS DE TRANSMISIÓN DE CARBAPENEMASAS. CLONES EXITOSOS.....	21
1.5. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA DETECCIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS	25
1.6. ESTUDIO DE PORTADORES.....	31
2. ASPECTOS GENERALES DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS	33
2.1. CONCEPTO DE BACTERIEMIA, SINDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA, SEPSIS, SEPSIS GRAVE Y SHOCK SÉPTICO.	33
2.2. INFECCIONES INVASIVAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS. FACTORES DE RIESGO DE COLONIZACIÓN E INFECCIÓN.....	36
2.3. FOCOS DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS.	38
2.4. PRONÓSTICO DE LAS BACTERIEMIAS POR EPC. MORTALIDAD GLOBAL	39
2.5. MANEJO DE LA BACTERIEMIA POR EPC: TRATAMIENTO DE SOPORTE Y CONTROL DEL FOCO.....	41
3. EL PROBLEMA DEL TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS	43
3.1. TRATAMIENTO EMPIRICO ANTE LA SOSPECHA DE BACTERIEMIA POR EPC	43
3.2. IMPORTANCIA DE LA PRECOCIDAD DEL TRATAMIENTO DIRIGIDO ACTIVO.....	44
3.3. MONOTERAPIA O TERAPIA COMBINADA.....	44

3.4.	ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS ACTUALES.....	45
3.5.	POSIBLES ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS FUTURAS	50
	JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	53
1.	JUSTIFICACIÓN.....	53
2.	HIPÓTESIS.....	53
3.	OBJETIVOS.....	53
	MATERIAL Y MÉTODO	55
1.	DISEÑO DEL ESTUDIO	55
2.	PERÍODO DE ESTUDIO	57
3.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN. DETECCIÓN DE CASOS.....	57
3.1.	CRITERIOS ESPECÍFICOS DE EXCLUSIÓN PARA LA ELABORACIÓN DEL MODELO Y SCORE PREDICTIVOS DE MORTALIDAD.....	58
3.2.	CRITERIOS ESPECÍFICOS DE EXCLUSIÓN PARA LA EVALUACIÓN DEL TIPO DE TRATAMIENTO.....	58
4.	VARIABLES Y DEFINICIONES	59
4.1.	VARIABLES RESULTADO.....	59
4.2.	VARIABLES EXPLICATIVAS.....	59
4.3.	VARIABLE TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO	61
4.4.	VARIABLES MICROBIOLÓGICAS.....	62
5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	63
5.1	DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL SCORE PREDICTIVO DE MORTALIDAD.....	63
5.2	COMPARACIÓN DEL IMPACTO EN MORTALIDAD DEL TRATAMIENTO COMBINADO O MONOTERAPIA	66
6.	ASPECTOS ÉTICOS Y FINANCIACIÓN	68
	RESULTADOS	69
1.	COHORTE GLOBAL. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON BACTERIEMIAS POR EPC.	69
2.	OBTENCIÓN Y VALIDACIÓN DEL MODELO Y SCORE PREDICTIVOS DE MORTALIDAD	74
3.	EFFECTO DEL TIPO DE TRATAMIENTO	88

DISCUSIÓN.....	106
1. ESTUDIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO	106
2. DESARROLLO DEL MODELO PREDICTIVO	109
3. EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO	112
4. LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO	115
CONCLUSIONES	118
BIBLIOGRAFIA.....	120
PRODUCCIÓN CIENTÍFICA.....	142
ANEXOS	144
ANEXO 1	144
RESOLUCIÓN AEMPS	145
APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA HOSPITAL VIRGEN MACARENA	147
INSCRIPCIÓN EN CLINICALTRIALS.GOV	149
ANEXO 2	152
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	153
MEMORANDUM OF UNDERSTANDING PROYECTO INCREMENT	167
ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD	170
ANEXO 3	171
CENTROS PARTICIPANTES PROYECTO INCREMENT	172
INVESTIGADORES PARTICIPANTES EN EL PROYECTO INCREMENT	172
ANEXO 4	175
CHECKLIST DE ITEMS DE ACUERDO AL DOCUMENTO STROBE.	176
DICOTOMIZACIÓN DE LAS VARIABLES MEDIANTE ANÁLISIS DE ÁRBOLES DE CLASIFICACIÓN Y REGRESIÓN TIPO CART	181
CLASIFICACIÓN DE LOS CENTROS PARTICIPANTES EN LA COHORTE DE DERIVACIÓN SEGÚN SU RIESGO DE MORTALIDAD AL DÍA 14, OBTENIDO CON EL MODELO TREENET, CONTROLADO POR LAS DEMÁS VARIABLES.....	188

ABREVIATURAS

AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
ADN: ácido desoxirribonucleico
APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
ATM: aztreonam
BLEE: betalactamasas de espectro extendido
CC: complejo clonal
CD: cohorte de derivación
CLA: ácido clavulánico
CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute
CMI: concentración mínima inhibitoria
CV: cohorte de validación
DE: desviación estándar
DM: Diabetes Mellitus
E: Especificidad
ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control
EDTA: etilendiaminotetraacético
EPC: enterobacterias productoras de carbapenemasas
EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GES: Guiana Extended Spectrum betalactamase enzyme
IMI: Imipenem-hydrolyzing betalactamase enzyme
INR: International Normalized Ratio
KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase
MALDI-TOF: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight
MBL: metallo betalactamase
MLST: Multilocus Sequence Typing
NMC-A: non-metallo betalactamase A
mmHg: milímetros de Mercurio
OXA: oxacilinas
PCR: reacción en cadena de la polimerasa
PBP: Penicillin Binding Proteins
S: Sensibilidad
SIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica

SME: *Serratia marcescens* enzyme

SOFA: Sequential Organ Failure Assessment

ST: secuencia tipo

TA: tensión arterial

TNF-a: factor de necrosis tumoral alfa

TTPA: tiempo de tromboplastina parcial activada

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

VIM: Verone integron-encoded metallobeta lactamase

VPN: Valor Predictivo Negativo

VPP: Valor Predictivo Positivo

INTRODUCCIÓN

La resistencia microbiana se ha convertido en un problema de salud pública dado su crecimiento exponencial en todo el mundo en los últimos años. La importancia de este fenómeno se entiende por el aumento en la morbilidad y mortalidad asociadas a infecciones producidas por microorganismos multirresistentes (ECDC 2009).

El aumento de las resistencias a antimicrobianos se ha apreciado tanto en gérmenes grampositivos como en gramnegativos, pero mientras que para los grampositivos seguimos teniendo alternativas terapéuticas eficaces así como varias en investigación y desarrollo, en el caso de los gramnegativos nos encontramos en ocasiones sin ningún antimicrobiano activo y con escasos fármacos verdaderamente novedosos en fases avanzadas de investigación.

Entre los distintos mecanismos de resistencia a antibióticos, el que probablemente más preocupa en la actualidad es el de las carbapenemasas, dado que se están diseminando rápidamente por todo el mundo. Las enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) suelen ser resistentes a diferentes grupos de antibacterianos lo que hace que las posibilidades terapéuticas sean escasas.

Las autoridades sanitarias de muchos países se han hecho eco de la relevancia de este problema y han comenzado a coordinar medidas de vigilancia y control en los diferentes ámbitos sanitarios (White House Office 2015).

Al estudio de algunos aspectos de las infecciones causadas por EPC va dirigida esta tesis doctoral.

1. RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS

1.1. BETALACTAMASAS

La resistencia a betalactámicos, se puede producir por varios mecanismos, pero el más importante por su frecuencia y eficacia es la producción de betalactamasas. Las betalactamasas son enzimas de naturaleza proteica que actúan hidrolizando el anillo betalactámico. El grado de resistencia que determinan se correlaciona con su concentración, afinidad por los diferentes betalactámicos y propiedades. Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma o en plásmidos y pueden producirse de manera constitutiva o inducible (Jorgensen 2015, Calvo 2011).

La continua descripción de nuevas betalactamasas ha creado problemas en su clasificación y nomenclatura. Actualmente se conocen cerca de 1000 enzimas. Bush en el año 1989 propuso una clasificación basada en la actividad enzimática o afinidad de las enzimas por diferentes sustratos y su sensibilidad a la acción inhibidora por el ácido clavulánico (Bush 1989). Esta clasificación fue revisada en el año 1995 por Bush, Jacoby y Medeiros y actualizada en 2010 por Bush y Jacoby (Bush 2010). Por otro lado, Ambler en 1980 propuso una clasificación en función de los mecanismos de interacción enzima-sustrato y la secuencia de aminoácidos de las betalactamasas en la que distinguen cuatro clases de enzimas designados como A, B, C y D. Las enzimas pertenecientes a los grupos A, C y D son serin-betalactamasas, mientras que las que pertenecen al grupo B, al requerir zinc para hidrolizar su sustrato, se denominan metalobetalactamasas. Esta clasificación es también útil desde el punto de vista clínico y epidemiológico (Ambler 1980).

De entre todas las betalactamasas descritas hasta el momento, cabe destacar por su interés e implicaciones clínicas las siguientes: 1) Betalactamasas de espectro extendido o BLEE (pertenecen a los grupos 2be, 2ber y 2de de la clasificación de Bush y Jacoby; las más importantes son enzimas tipo TEM, SHV y CTX-M). 2)

Betalactamasas resistentes a los inhibidores de betalactamasas (grupo 2br: enzimas tipo TEM y SHV). 3) Betalactamasas tipo AmpC (grupo 1: enzimas tipo LAT, MIR, CMY y FOX). 4) Carbapenemasas (grupos 2f, 2df y 3: enzimas tipo VIM, IMP, IMI, KPC, NDM y OXA) (Calvo 2011).

1.2. CARBAPENEMASAS. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN.

Las carbapenemasas son enzimas con capacidad de hidrolizar los carbapenémicos. Actualmente, suponen el mecanismo más importante de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias, por su frecuencia e implicaciones epidemiológicas y clínicas. Aunque algunas de estas enzimas están codificadas por genes cromosómicos, la mayoría están mediadas por plásmidos. Los correspondientes genes se encuentran con frecuencia en integrones, lo cual favorece la diseminación de estas enzimas (Martínez-Martínez 2014).

Las enterobacterias que producen carbapenemasas frecuentemente contienen otros genes de resistencia a betalactámicos a quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas, sulfonamidas y otros antimicrobianos, por lo que no es raro que presenten fenotipos de resistencia a betalactámicos complejos causando multirresistencia o incluso panresistencia.

En la tabla 1 se presenta la clasificación de las carbapenemasas más frecuentes, los microorganismos en los que se encuentran habitualmente y su localización genética.

Tabla 1. Clasificación general de las carbapenemasas

Clase molecular ¹ (Grupo funcional ²)	Enzimas	Microorganismos	Localización genética
A (2f)	Sme, IMI, NmcA	<i>Serratia marcescens</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	Crom
	KPC	Enterobacterias	Plas
	GES	Enterobacterias <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Plas
B (3)	L1	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Crom
	CcrA	<i>Bacteroides fragilis</i>	
	CphA	<i>Aeromonas hydrophila</i>	
	BcII	<i>Bacillus cereus</i>	
	IMP,SPM,SIM, GIM, VIM, AIM, DIM, KHM, NDM	Enterobacterias <i>Pseudomonas</i> spp. BGNNF	Plas (Crom) ³
D (2df)	OXA (OXA-48)	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Crom, Plas
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
		Enterobacterias	

¹Según la clasificación de Ambler. ²Según la clasificación de Bush y Jacoby. 2010.

³ocasionalmente de codificación cromosómica. BGNNF, bacilos gramnegativos no fermentadores; Plas, plasmídica; Crom, cromosómica

1.3. TIPOS DE CARBAPENEMASAS Y EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

Carbapenemasas de clase A

Esta clase de enzimas fue detectada de forma esporádica en los años 80, pero cobró especial importancia con la aparición de las enzimas *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) en 1996 (Yigit 2001) y su diseminación mundial, sobre todo, a partir del año 2000 (Walther-Rasmussen 2007). Las enzimas del tipo KPC se describieron por primera vez en 1996 en un aislado de *K. pneumoniae* en Carolina del Norte. Se han identificado veinte variantes hasta la fecha. Desde su descubrimiento se ha descrito en *K. pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter* spp y *Pseudomonas* spp (Nordmann 2012). Los dos tipos más frecuentemente aislados son KPC-2 y KPC-3, que sólo

difieren entre sí en un aminoácido (Poirel 2007). La producción de KPC en enterobacterias confiere resistencia a penicilinas y cefalosporinas, sin embargo, la resistencia a carbapenémicos puede ser de bajo nivel. Como el resto de carbapenemasas de clase A, su efecto se inhibe por el ácido clavulánico, aunque en menor grado que en otras enzimas de clase A. No es infrecuente que las enterobacterias productoras de KPC además posean otras betalactamasas de codificación plasmídica. Además, los plásmidos que codifican KPC suelen también poseer otros genes que confieren resistencia a otros antimicrobianos como quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclinas, trimetoprim y sulfonamidas. Por este motivo, las enterobacterias que producen KPC suelen ser multirresistentes o extensamente resistentes (Carattoli 2013, Chen 2014). La diseminación de KPC se ha asociado sobre todo a la diseminación de algunos clones exitosos, como *K. pneumoniae* ST 258 (y otros estrechamente relacionados), que han sido identificados en Israel, Italia, Grecia, Norteamérica o España entre otros muchos países (Carattoli 2013, Chen 2014).

La enzima *Serratia marcescens* enzyme (SME-1) se detectó por primera vez en 1982 en Inglaterra en *S. marcescens* (Walther-Rasmussen 2007); posteriormente sus variantes SME-2 y SME-3 se han descrito en Norteamérica (Mataseje 2014). Estas enzimas son de codificación cromosómica. La enzima IMI (imipenem-hydrolyzing betalactamase) fue descrita inicialmente en *Enterobacter cloacae* en Norteamérica en 1996 siendo también de codificación cromosómica, aunque posteriormente se descubrió una variante en *Enterobacter asburiae* (IMI-2) siendo ésta de codificación plasmídica (Rasmussen 1996, Nordmann 2012). Hasta la fecha sólo se han descrito seis variantes de IMI (Rojo-Bezares 2012). Su distribución mundial no es muy llamativa pero incluye Norteamérica, Argentina, Francia, España, Croacia, Finlandia e Irlanda (Nordmann 2014). La expresión de estas enzimas es modificada por el regulador *LysR* (Walther-Rasmussen 2007). Por otro lado, la enzima non-metallo-carbapenemase-A (NMC-A) se identificó en Francia en 1990 (Nordmann 1993). Como IMI, su expresión es regulada por *LysR* (Nordmann 1993). Todos estos tipos de enzimas hidrolizan un amplio espectro de sustratos incluyendo penicilinas, cefalosporinas, aztreonam y carbapenémicos.

Las enzimas Guiana extended-spectrum betalactamase (GES) se descubrieron en el año 2000 (Bebrone 2013). De entre sus 24 variantes actualmente reconocidas, existen algunas con actividad carbapenemasa. Se han descrito por todo el mundo (Nordmann 2012). Su codificación es plasmídica, aunque se ha descrito ocasionalmente su codificación cromosómica en algunas enterobacterias (Walther-Rasmussen 2007).

Carbapenemasas de clase B o metalo-betalactamasas (MBL)

Las MBL hidrolizan todos los betalactámicos a excepción de los monobactámicos (aztreonam). Su mecanismo de acción es dependiente de iones de zinc por lo que el EDTA (quelante de metales) inhibe su efecto. Sin embargo no se inhiben por el ácido clavulánico (Queenan 2007).

No es infrecuente que se encuentren junto a otros mecanismos de resistencia como puede ser la producción de BLEE, lo cual hace a estos aislados resistentes además a aztreonam.

La carbapenemasa IMP-1 (denominada así por su actividad imipenemasa) fue la primera MBL de codificación plasmídica descubierta. Fue identificada en *P. aeruginosa* en Japón en el año 1988 (Watanabe 1991). Posteriormente, en 1993, se describió en *S. marcescens* en el mismo país (Ito 1995). Desde entonces se ha distribuido mundialmente habiéndose descrito cuarenta variantes en distintas especies de enterobacterias. Se encuentra codificada habitualmente en genes incluidos en integrones de clase 1 (aunque esporádicamente en integrones de clase 3). Estos integrones se localizan normalmente en transposones y plásmidos que posibilitan su transmisión horizontal. Además estos mismos integrones poseen otros cassettes codificando mecanismos de resistencia a otros antimicrobianos (Walsh 2005). La mayor prevalencia de este tipo de carbapenemasa se da en el sudeste asiático, Japón y Taiwán (Ito 1995, Zhao 2011). No obstante también se han descrito brotes en España como el producido por *K. oxytoca* productora de

IMP-8 ocurrido en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital de la Merced de Osuna (Sevilla), caracterizada en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen Macarena (Vergara-López 2013, López-Cerero 2014).

Las enzimas de tipo VIM (Verone integron-encoded metallo-beta-lactamase) se detectaron por primera vez en un aislado de *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos en 1997 en Verona, Italia (Lauretti 1999). Desde entonces se han descrito más de cuarenta variantes de esta enzima, siendo una de las MBL más ampliamente distribuida por todo el mundo y habiendo sido identificada además de en *P. aeruginosa* en distintos miembros de la familia Enterobacteriaceae (Carattoli 2013). Habitualmente su codificación se encuentra en elementos móviles, incluidos en integrones de clase 1 junto a otros genes de resistencia a aminoglucósidos, cloranfenicol y sulfonamidas. No obstante, también ha sido descrito integrado en el cromosoma bacteriano (Carattoli 2013). Su distribución es mundial y se ha encontrado tanto de forma esporádica como causando brotes en Europa (ej. Grecia, Italia, España), Asia (ej. Taiwán, Japón) y América (Zhao 2011).

En 2008 se detectó por primera vez en un aislado de *K. pneumoniae* la enzima NDM (New Delhi metallo-beta-lactamasa) en un paciente sueco de origen indio que había estado previamente ingresado en un centro hospitalario en Nueva Delhi, que presentaba una sepsis de origen urinario (Yong 2009). Desde ese momento se ha diseminado rápidamente, habiéndose detectado en todos los continentes originalmente en enterobacterias (fundamentalmente *E. coli* y *K. pneumoniae*) y también en *Acinetobacter baumannii* (Jain 2014). Hasta el momento se han descrito doce tipos diferentes de NDM. Su codificación en enterobacterias es plasmídica, habiéndose encontrado en diferentes tipos de plásmidos. Su origen no está claro, aunque se cree que habrían estado integradas en el cromosoma de especies ambientales de *Acinetobacter* spp y de ahí habrían saltado a elementos móviles (Carattoli 2013). Los aislados productores de NDM habitualmente poseen otros muchos mecanismos de resistencia a beta-lactámicos (incluyendo enzimas tipo OXA, BLEE, AmpC, otras carbapenemasas) así como enzimas de resistencia a otros antimicrobianos como aminoglucósidos, macrólidos y quinolonas. Estos

elementos pueden estar codificados en el mismo plásmido o en otros diferentes (Johnson 2013). La importancia de esta enzima radica en que los aislados productores de la misma habitualmente presentan muy escasas opciones de tratamiento, quedando prácticamente limitados a colistina y, en ocasiones, tigeciclina y fosfomicina. India y Pakistán son los principales reservorios de esta enzima aunque ya se ha distribuido por todo el mundo, asociado fundamentalmente a viajes y movimientos migratorios desde esas zonas (Qin 2014).

Carbapenemasas de clase D

En este grupo se incluyen las oxacilinasas (OXA). Entre estas enzimas se encuentran algunas que presentan actividad BLEE y unas pocas carbapenemasas. Hoy se considera que algunas oxacilinasas tradicionalmente no consideradas carbapenemasas (como pueden ser OXA-2 y OXA-10) poseen cierta capacidad catalítica frente a carbapenémicos pudiendo determinar resistencia a este grupo de antibióticos dependiendo de otras circunstancias del huésped (Antunes 2014).

Las OXA poseen menor actividad hidrolítica frente a carbapenémicos que otras carbapenemasas; de hecho, los aislados productores de OXA que se presentan como claramente resistentes a los carbapenémicos habitualmente poseen algún otro mecanismo añadido como puede ser la pérdida de porinas. A diferencia de las enzimas de clase A, estas carbapenemasas de clase D causan resistencia de alto nivel a temocilina (Hartl 2013).

En 2003 se describió en Estambul, Turquía, un aislado de *K. pneumoniae* productor de la carbapenemasa OXA-48 (Poirel 2004). Desde ese momento se han documentado casos en otros miembros de la familia Enterobacteriaceae por toda Turquía, Oriente medio y Norte de África, considerándose estas zonas como reservorio (Poirel 2012). Esta enzima está habitualmente codificada en un elemento móvil junto a otros mecanismos codificados en el mismo plásmido que le hacen exitoso para su transmisión horizontal (Potron 2014). Se ha sugerido que el

origen de OXA-48 está en el cromosoma de *Shewanella spp* y que se movilizó a plásmidos gracias a elementos genéticos como IS1999, y desde ahí a diferentes especies bacterianas (Poirel 2004, Carrer 2010). En algunos países europeos se ha convertido en la carbapenemasa más frecuentemente detectada, como es el caso de España, Francia, Alemania, Suiza, Holanda y Reino Unido (Nordmann 2014, Glasner 2013, Canton 2012, Oteo 2013). Está muy relacionada a los movimientos migratorios desde las zonas endémicas anteriormente referidas. No obstante, en América, Rusia, China y Australia sólo se han declarado casos esporádicos hasta el momento (Nordmann 2014).

1.4. RESERVORIOS Y MECANISMOS DE TRANSMISIÓN DE CARBAPENEMASAS. CLONES EXITOSOS.

La diseminación de enterobacterias productoras de carbapenemasas no ha sido la misma para todas las enzimas, siendo los genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}* y *bla_{OXA-48}* los que han mostrado una mayor capacidad de diseminación.

En el caso de KPC, estas enzimas se han extendido principalmente de forma clonal desde el epicentro inicial localizado en la ciudad de Nueva York, desde donde se transfirió a Israel y Grecia, y posteriormente a otros países (Yigit 2001; Bratu 2005; Wooford 2004).

NDM y OXA-48 también han sido vehiculizados por clones con una alta capacidad de transmisión, pero la transmisión horizontal a otros clones de la misma o distinta especie está jugando también un papel muy importante en su diseminación (López-Cerero 2014).

Una cuestión relevante desde el punto de vista epidemiológico es si los clones actualmente exitosos ya lo eran antes o se han convertido en exitosos precisamente al adquirir ese mecanismo de resistencia (Woodford 2011).

El papel de los clones exitosos

En la base de datos MLST (Multilocus Sequence Typing) existen más de 1570 secuencias tipo (ST) de *K. pneumoniae*; sin embargo, solo unas pocas ST (ST147, ST383 y ST101), así como algunos complejos clonales (CC258/340, CC15/14 y ST405/663) son los principales responsables de la diseminación de genes de carbapenemasas (Woodford 2011).

Los complejos clonales (CC) se definen como aquellas ST con no más de una diferencia alélica en un locus con respecto a otro. Existe un gran CC que incluye 96 ST, llamado CC292. Este complejo clonal incluye muchos ST internacionalmente prevalentes y multirresistentes, entre los que se encuentran los cluster ST258/340 y ST15/14.

La diseminación mundial de KPC se ha asociado a ST258 en Estados Unidos, Israel y Grecia (Mataseje 2011); a ST437 en América del Sur (Seki 2011); a ST11 en el Este asiático (Qi 2011); y más recientemente a ST512 en Europa (Migliavacca 2013; López-Cerero 2014).

Se han hecho muchos esfuerzos por entender la virulencia y los condicionantes del éxito del complejo ST258, incluyendo estudios de secuenciación completa del genoma. En comparación con el de otros ST se ha demostrado que los genes relacionados con la motilidad, la secreción y la reparación del ADN son únicos en los aislados de ST258 (Tzouveleki 2013). Algunos de estos genes son de codificación plasmídica y curiosamente, independiente del contenido en plásmidos, estaban presentes en todos los aislados de ST258 (Chmelnitsky 2013).

En lo que se refiere al complejo clonal CC258, *K. pneumoniae* ST147 se ha encontrado en los cinco continentes portando genes de carbapenemasas de clase A, B y D (Peirano 2011, Richter 2012). Sin embargo, *K. pneumoniae* ST101, parece haberse confinado a países del área mediterránea (y de ahí, haberse importado a países del norte de Europa) (Oteo 2013). Por último, *K. pneumoniae* ST405 (y su

variante ST663), se ha encontrado exclusivamente en España hasta la fecha, causando brotes inter-hospitalarios (Oteo 2013).

Los aislados más frecuentemente implicados en la diseminación de NDM-1 por todo el mundo pertenecen a ST11 (que además ha estado implicado en la diseminación de VIM y OXA-48) (Williamson 2012, Giske 2012).

En la diseminación del gen OXA-48 entre Europa y Norte América ha estado implicado ST15 (Thomas 2012, Chmelnitsky 2013).

En el caso de *E. coli*, clones previamente exitosos como ST131, ST410 y ST101, han captado plásmidos que vehiculizan genes que codifican NDM, VIM, KPC y OXA-48. Algunos de esos clones exitosos de *E. coli*, eran bien conocidos anteriormente por ser productores de BLEE. En particular, ST131, es el clon que predominantemente ha vehiculado el gen de CTX-M-15 (Dimou 2012; Aschbacher 2013; Chen 2014; Mushtaq 2011).

Reservorios y vías de transmisión

En general, en la explicación de la epidemiología de las EPC debe considerarse, por un lado, la de las bacterias que las producen, y por otro y de forma asociada, la de los elementos genéticos en que se vehiculizan los genes que codifican las carbapenemasas.

En el caso de las enterobacterias productoras de enzimas KPC, su producción se asocia sobre todo con *K. pneumoniae*. El reservorio principal son los pacientes ingresados en hospitales de agudos o centros de larga estancia. Tras el alta hospitalaria, la persistencia en la flora intestinal en pacientes colonizados puede llegar a ser de un año o incluso más en el caso de algunos pacientes reingresadores (Prabaker 2012). Se considera que el personal sanitario es el principal agente transmisor (Rock 2014). El ambiente hospitalario (superficies, dispositivos, etc.) puede actuar como reservorio secundario y contribuir al mantenimiento de brotes.

Hay pocos estudios que hayan evaluado la prevalencia de portadores sanos de KPC fuera de hospitales, pero hasta la fecha no hay evidencia de diseminación relevante de esta enzima en la comunidad en estudios realizados en Estados Unidos (Prabaker 2012) y en Suiza (Nüesch-Inderbinen 2013), lo que apuntaría a que el problema está limitado, de momento, a centros sanitarios. Se han comunicado algunos casos aislados de transmisión por alimentos en pacientes infectados por *Salmonella* productora de KPC en Estados Unidos (Miriagou 2003) y en Colombia (Rodriguez 2014); sin embargo, tampoco parece que los alimentos sean, por el momento, un vehículo relevante en la epidemiología de estas enzimas.

En el caso de IMP, los brotes hospitalarios han estado en general relacionados con Unidades de Cuidados Intensivos de adultos o pediátricas. Las duchas, los lavabos, las tubuladuras de los respiradores y las incubadoras, han sido los reservorios que se han encontrado en brotes descritos en Australia (Leung 2013), España (Vergara-López 2013), Túnez (Chouchani 2011) y China (Yu 2012) respectivamente, en algunos casos en brotes causados por *K. oxytoca*.

En el caso de VIM, en estudios realizados en España y en Francia se han encontrado portadores sanos en la comunidad sin ningún tipo de relación con la atención sanitaria. Como en otros casos de patógenos nosocomiales, las enterobacterias productoras de VIM pueden colonizar superficies y materiales contribuyendo al mantenimiento de un brote (Gijón 2012). Se han encontrado cepas de *Salmonella* y *E. coli* productores de VIM en productos alimentarios que se han postulado como vehículos de transmisión a humanos en Alemania y en Marruecos (Guerra 2010).

El caso de NDM es distinto ya que la prevalencia de portadores en áreas endémicas como puede ser India o Pakistán es bastante alta tanto en pacientes hospitalizados como en la comunidad (Day 2013; Rai 2014). Además se ha encontrado en numerosas muestras de agua del río Ganges y en consecuencia en derivados alimentarios animales y vegetales de esta zona (Guerra 2014), así como en muestras de agua en Delhi (Walsh 2011). Estos productos han sido el origen de brotes hospitalarios en distintos países, en los que frecuentemente se ha

encontrado como caso índice algún paciente trasladado desde esas zonas endémicas (Göttig 2010, Fournier 2012).

Las enterobacterias productoras de OXA-48 son muy importantes en el área mediterránea. La prevalencia de portadores en pacientes hospitalizados puede llegar al 13% (Girlich 2014), y en la comunidad hasta el 1.5% en algunos países del norte de África (Beyrouthy 2014). Igualmente se ha encontrado en el medio ambiente en zonas endémicas. De esta forma, se han descrito casos de infecciones por *Salmonella* productora de OXA-48 en viajeros procedentes de Egipto, Marruecos y Siria (Guerra 2014). No obstante, también se han producido algunos brotes en los que no se ha encontrado relación con el norte de África (Paño-Pardo 2013). La duración de la colonización no se conoce con seguridad pero, al igual que ocurre en el caso de la KPC, parece jugar un papel importante en el mantenimiento de situaciones endémicas.

1.5. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA DETECCIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS

Los carbapenémicos son a menudo la última línea de tratamiento disponible para las infecciones causadas por microorganismos multirresistentes. Los laboratorios de Microbiología Clínica actúan como sistema de alerta informando de la presencia de mecanismos de resistencia en aislados bacterianos con relevancia clínica. Las EPC son un problema actual emergente por lo que la detección de estos microorganismos en el laboratorio es un paso crítico para el correcto manejo del paciente así como para establecer medidas de prevención y control.

Los laboratorios de Microbiología Clínica deben estar capacitados para detectar la producción de carbapenemasas en enterobacterias, especialmente cuando se aísla un tipo por primera vez en una población bacteriana local (Bou 2014).

Está indicada su detección tanto en aislados clínicos como en muestras de portadores con el fin de evitar brotes intrahospitalarios.

La manifestación fenotípica de resistencia a betalactámicos de una carbapenemasa concreta varía notablemente en función de la capacidad hidrolítica de la enzima, del nivel de expresión de la misma, la existencia de otros mecanismos de resistencia añadidos o la especie bacteriana. Por este motivo, la detección por métodos fenotípicos en ocasiones es dificultosa, debiendo recurrirse frecuentemente a métodos moleculares o proteómicos para la identificación de la carbapenemasa.

En los últimos años se han desarrollado diferentes métodos microbiológicos que permiten detectar la producción de carbapenemasas en enterobacterias:

Métodos fenotípicos

La resistencia a carbapenémicos por métodos de microdilución o difusión con discos es un marcador bastante fiable para la detección de la mayoría de las carbapenemasas (Queenan 2007). La sensibilidad disminuida o resistencia a ertapenem es muy sensible como marcador de producción de carbapenemasas, por lo que es la estrategia seguida por muchos expertos; sin embargo, se presentan resultados falsos positivos especialmente en aislados de *Enterobacter* spp que frecuentemente poseen otros mecanismos de resistencia como hiperproducción de AmpC y/o pérdida de porina, que por sí mismos confieren resistencia o sensibilidad disminuida a ertapenem, lo que obliga a comprobar que la disminución de sensibilidad es causada por carbapenemasas. La sensibilidad disminuida o resistencia a imipenem no puede utilizarse como marcador en el caso de aislados de la tribu *Proteaceae* que de forma natural presenta CMI elevadas a este carbapenémico. Así, la sensibilidad disminuida o resistencia a meropenem es el mejor marcador de la producción de carbapenemasas para otros autores (Giske 2013).

La coexistencia de resistencia al menos a una cefalosporina de tercera generación junto a una reducción en la sensibilidad a un carbapenémico debe hacernos pensar

también en la presencia de una carbapenemasa de clase A o de clase B. Sin embargo, en el caso de las enzimas de clase D, las cefalosporinas no necesariamente se ven afectadas (Walther-Rasmussen 2006). En cualquier caso, debe recordarse que la coexistencia con BLEE no es excepcional.

- TEST MODIFICADO DE HODGE

Ha sido ampliamente usado y es hasta la fecha el único recomendado por CLSI (CLSI 2009). Los CDC recomiendan su empleo para la detección de carbapenemasas en aislados que presentan CMI's elevadas a carbapenémicos aunque en el rango de sensibles (CDC 2009, <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5810a4.htm>). En el caso de *K. pneumoniae* productora de KPC la sensibilidad es superior al 90%. También se ha ensayado con otras carbapenemasas, incluida NDM-1, con buenos resultados. En el caso de las carbapenemasas tipo OXA, el test de Hodge es menos útil que con las metalobetalactamasas o las KPC ya que la hidrólisis de los carbapenémicos es más débil.

La técnica emplea discos de 10 mcg de meropenem o ertapenem. El disco se deposita en el centro de una placa de agar Mueller-Hinton sembrada con una suspensión de la cepa *E. coli* ATCC 25922. La cepa problema se siembra en estria sobre la superficie del medio y la producción de carbapenemasa se evidencia por el crecimiento de la cepa control en la proximidad a la estria realizada con la cepa problema (CLSI 2009).

EUCAST, sin embargo, no recomienda este método de screening en base a la dificultad que presenta la interpretación de los resultados y la variabilidad en sensibilidad y especificidad dependiendo del aislado y el tipo de carbapenemasa (EUCAST 2012).

- ESTUDIO DE INHIBIDORES DE CARBAPENEMASAS

Se basan en la diferencia en el tamaño de los halos obtenidos al enfrentar simultáneamente la cepa problema a discos de meropenem (10mcg) y discos de meropenem con diferentes inhibidores de carbapenemasas. Una diferencia de 4mm entre los halos permite confirmar la producción de carbapenemasas. Uno de los inconvenientes de estos métodos es que requieren 18-24 horas para disponer de resultados.

La detección fenotípica de carbapenemasas de clase A se basa en su inhibición por ácido borónico. Existen varios métodos como puede ser la sinergia con doble disco o el uso combinado de discos de meropenem (10mcg) y discos de meropenem/ácido borónico (10mcg/400-600mcg) (Giske 2011).

En el caso de carbapenemasas de clase B, las pruebas basadas en la sinergia con EDTA han sido las más usadas (Yong 2002), aunque la técnica de discos combinados con meropenem con y sin ácido dipicolínico también es de utilidad (Kimura 2005).

Para las enzimas de clase D, donde no es útil el uso de discos combinados, la resistencia de alto nivel a piperacilina-tazobactam y a temocilina puede ser un buen marcador (Huang 2014).

- COLORIMETRÍA

Se han desarrollado diferentes métodos colorimétricos como el Rapidec Carba NP® (Rosco) y Beta Carba test® (Bio-Rad), basados en la hidrólisis del anillo betalactámico de imipenem. En todos estos métodos, un viraje de color producido por un cambio en el pH tras la hidrólisis del imipenem indicaría la producción de una carbapenemasa.

Actualmente se están haciendo modificaciones para tratar de mejorar los resultados ya que en algunos casos son difíciles de interpretar al cambiar de color también el pocillo control por diferentes motivos (Dortet 2014). La gran ventaja de estas pruebas es que el resultado está disponible entre 30 minutos y 2 horas.

- INMUNOCROMATOGRAFÍA

Recientemente se han comercializado métodos de inmunocromatografía rápidos que utilizan anticuerpos monoclonales frente a epítomos de carbapenemasas para la detección de KPC (KPC K-SeT, Letitest®) y de OXA-48 (OXA-48 Card Letitest, Letitest®) a partir de colonia bacteriana directa. Los resultados de dichos procedimientos se obtienen en 15 minutos con unos valores de S, E, VPP y VPN próximos al 100% (Mediavilla-Gradolph 2016).

Métodos proteómicos

Algunos estudios recientes postulan la espectrometría de masas mediante MALDI-TOF como una técnica para detectar la producción de carbapenemasas. Esta estrategia se basa en comparar el espectro generado por un carbapenémico intacto, con el generado por un carbapenémico tras la hidrólisis de su anillo betalactámico (Miriagou 2010). Este método permitiría detectar la presencia de carbapenemasas pero no el tipo, salvo que el experimento se haga en paralelo con otro inóculo bacteriano junto a un inhibidor (ej. EDTA, borónico, etc.).

Un aspecto a tener en cuenta es que el tiempo necesario para la hidrólisis del carbapenémico depende del tipo de carbapenemasa y, no tanto, de la CMI que presente el aislado. Por este motivo hay que conocer los distintos tiempos de incubación que hay que respetar para los aislados problema. Otra limitación que puede dar lugar a falsos positivos es la eventual hidrólisis espontánea del carbapenémico (Burckhardt 2011).

La concentración e inóculo de la muestra también puede hacer variar el resultado, para ello se han probado distintos buffer de extracción y concentraciones de la matriz. Algunos autores han evaluado la técnica directamente de muestras de hemocultivo positivo obteniendo buenos resultados (Sparbier 2012).

Se requiere estandarizar adecuadamente la técnica de preparación de la muestra, dilución del antibiótico y calibración del espectrofotómetro para que llegue a tener una adecuada reproductibilidad y sea útil como método rápido y eficaz de screening para la detección de carbapenemasas.

Métodos moleculares

Existen varias PCR multiplex comerciales disponibles para la detección de carbapenemasas. Ninguna de ellas se encuentra validada clínicamente con estudios multicéntricos.

La PCR en tiempo real está más extendida para la detección de carbapenemasas en enterobacterias. Hay diversos sistemas comerciales que han demostrado muy buenos resultados en términos de sensibilidad y especificidad. Estos métodos se están usando tanto en muestras clínicas como en muestras de estudio de portadores (fundamentalmente torundas rectales). Además, en este último caso, demuestran mayor sensibilidad que el cultivo en medios selectivos (Swayne 2011). Un ejemplo es el Xpert Carba-R (Cepheid®), que permite la detección y diferenciación de las cinco familias de genes de carbapenemasas más prevalentes (KPC, NDM, VIM, IMP-1 y OXA-48) en menos de una hora.

Los microarrays de ADN para la detección de genes de codificación de mecanismos de resistencia están muy desarrollados en cuanto a lo que se refiere a las BLEE. Sin embargo, recientemente se han creado microarrays comerciales muy prometedores que permiten también la detección de carbapenemasas. Se ha evaluado a partir de muestra de hemocultivo positivo directamente con una sensibilidad y especificidad del 100% (Naas 2011, Woodford 2011).

La pirosecuenciación es una prometedora y novedosa herramienta basada en métodos de secuenciación en tiempo real, que permite conocer un determinado genoma mediante luminiscencia. Hasta la fecha se ha usado para la detección de BLEE. Son necesarios trabajos futuros que permitan su aplicación en la detección de carbapenemasas (Jones 2009).

1.6. ESTUDIO DE PORTADORES.

La colonización por enterobacterias productoras de carbapenemasas está asociada con diversos factores relacionados con la asistencia sanitaria y los pacientes colonizados sirven como reservorio y son causa de brotes nosocomiales (Calfee 2008, Marchaim 2007). La experiencia acumulada en diferentes brotes sugiere la detección precoz de portadores como una importante medida de control (Carmeli 2010, Mouloudi 2010, Glasner 2013, Gianella 2014, González-Padilla 2015).

La muestra más adecuada para el estudio de portadores es el frotis rectal.

En general, el procesamiento de la muestra se realiza mediante siembra en medios de cultivo selectivos y diferenciales, o medios cromogénicos. Algunos autores han empleado agar McConkey suplementado con imipenem a una concentración de 1mg/L (Landman 2005), mientras que en otros estudios se han empleado discos de 10 mcg de imipenem o ertapenem directamente sobre la siembra en medio McConkey (Landman 2005).

Entre los medios cromogénicos, el medio chromID CARBA (bioMérieux, Francia) es excelente para la detección de microorganismos productores de KPC y MBLs (Vrioni 2012). El medio ChromID OXA-48 (bioMérieux, Francia) es específico para la detección de productores de OXA-48. El medio chromID CARBA SMART (bioMérieux, Francia), son placas de agar divididas por la mitad que combina los dos anteriores (Girlich 2013). El medio SUPERCARBA, que contiene ertapenem, cloxacilina y sulfato de zinc junto a agar Brilliance CRE (Thermo Fisher Scientific,

Reino Unido), se ha desarrollado para la detección de cualquier tipo de carbapenemasa (Girlich 2013).

Aunque variable según los estudios, en general, la sensibilidad y especificidad de estos medios ha demostrado ser elevada, en torno a un 94% y un 80% respectivamente (Girlich 2013).

Actualmente está en evaluación la detección de portadores intestinales de enterobacterias productoras de carbapenemasas mediante sistemas semiautomáticos como Uro-Quick SYSTEM (Alifax®). Este sistema emplea un caldo de enriquecimiento selectivo en el que se inoculara la muestra y mediante diferentes algoritmos identifica como positivas aquellas en las que detecta crecimiento.

2. ASPECTOS GENERALES DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS

2.1. CONCEPTO DE BACTERIEMIA, SINDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA, SEPSIS, SEPSIS GRAVE Y SHOCK SÉPTICO.

Bacteriemia es un concepto de laboratorio y define la presencia de bacterias en la sangre, demostrada por un hemocultivo positivo. La sangre es normalmente un medio estéril, por lo tanto la presencia de bacterias, salvo que sea debida a una contaminación, traduce una infección del torrente sanguíneo (Reimer 1997, Weinstein 1997).

La clasificación de las bacteriemia puede realizarse en base a diferentes criterios:

- Según número de especies diferentes que se encuentran en la sangre:
 - Bacteriemia monomicrobianas: una sola especie bacteriana. Es lo más habitual.
 - Bacteriemia polimicrobianas: más de una especie. Aunque infrecuentes, suelen asociarse a focos abdominales o de piel y tejidos blandos.
- Según el tiempo en que las bacterias permanecen en el torrente sanguíneo:
 - Bacteriemia continua: ocurre cuando existe algún foco bacteriano intravascular, como en caso de endocarditis, catéteres intravasculares no retirados, y otras infecciones endovasculares.
 - Bacteriemia intermitente: las bacterias aparecen y desaparecen del torrente sanguíneo. Suele ocurrir en infecciones focales como abscesos no drenados, por ejemplo.
 - Bacteriemia transitoria: es la presencia de bacterias en la sangre, durante un corto período de tiempo, que desaparece

espontáneamente y no se repite, producto en general de procedimientos invasivos sobre mucosas.

- Según el foco:
 - Bacteriemias primarias o de origen desconocido. Se incluyen aquí las bacteriemias para las que el foco de infección no se ha encontrado. Incluye aquellas en las que la infección focal ha pasado desapercibida clínica y analíticamente, y aquellas causadas por translocación intestinal.
 - Bacteriemias secundarias. Son aquellas que ocurren como consecuencia de una infección focal en un órgano/sistema determinado, como puede ser la piel, el pulmón, el tracto digestivo, o un catéter (antiguamente, las bacteriemias de catéter se consideraron primarias), entre otras (Rodríguez-Baño 2010).

La presencia de bacterias en el torrente sanguíneo provoca en el huésped una respuesta inflamatoria a través de la liberación de mediadores entre los que destacan las citoquinas. En concreto, estas citoquinas se liberan producto de la interacción de los linfocitos y macrófagos con elementos de superficie de los microorganismos. Entre las citoquinas destacan por su potente actividad proinflamatoria el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y las interleuquinas, cuya cascada culmina con la liberación de radicales libres del oxígeno. Estos radicales pueden llevar a la muerte bacteriana pero a su vez producen daño endotelial y en consecuencia, son los responsables de los distintos síntomas y signos del **síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS)**.

Las variables definitorias del SRIS quedan recogidas en la tabla 2 (Levy 2003, ACCM 1992).

Tabla 2. Variables definitorias del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

VARIABLES GENERALES
<ul style="list-style-type: none">- Temperatura $>38^{\circ}$ o $<36^{\circ}$- Taquicardia (>90 latidos/minuto)- Taquipnea (>20 respiraciones/minuto) o hiperventilación ($\text{PaCO}_2 <32\text{mmHg}$)- Alteración del estado mental- Edemas significativos o balance hídrico positivo ($>20\text{mL/Kg}$ en 24h)- Hiperglucemia (glucemia $>140\text{mg/dL}$) en ausencia de diabetes mellitus
VARIABLES INFLAMATORIAS
<ul style="list-style-type: none">- Leucocitosis $>12000/\text{mm}^3$- Leucopenia $<4000/\text{mm}^3$- $>10\%$ células inmaduras- Proteína C reactiva > 2 DE del valor normal- Procalcitonina >2 DE del valor normal
VARIABLES HEMODINÁMICAS
<ul style="list-style-type: none">- Tensión arterial sistólica $<90\text{mmHg}$ o media $<70\text{mmHg}$- Saturación de oxígeno en sangre mixta venosa $<70\%$- Índice cardíaco $>3,5\text{L/min/m}^2$
VARIABLES DE PERFUSIÓN TISULAR
<ul style="list-style-type: none">- Hiperlactatemia $>1\text{mmol/L}$- Llenado capilar retardado
OTRAS VARIABLES DE DISFUNCIÓN DE ÓRGANO
<ul style="list-style-type: none">- Hipoxemia arterial ($\text{paO}_2/\text{FiO}_2 <300$)- Oligoanuria aguda (diuresis $<0,5$ ml/kg/hora durante al menos dos horas a pesar de una reanimación con fluidos)- Aumento de la creatinina $>0,5$ mg/dL sobre la basal- Trastornos de la coagulación (INR $>1,5$ o TTPA >60 s)- Ileo- Trombopenia ($<100,000/\text{mm}^3$)- Hiperbilirrubinemia (>4 mg/dL)

Tras el diagnóstico de una bacteriemia o ante la sospecha de la misma, se recomienda clasificar la gravedad clínica inicial del paciente de acuerdo con los criterios internacionales de la gravedad del SRIS en sepsis, sepsis grave y shock séptico. Estos términos fueron acuñados en 1992 y posteriormente revisados por las conferencias de consenso de la American College of Chest Physician y la Society of Critical Care Medicine (Levy 2003, Dellinger 2004).

Según estos criterios, se define **sepsis** como el síndrome de respuesta inflamatoria sistémico causado por una infección.

Se considera **sepsis grave** cuando se asocia algún signo de disfunción o hipoperfusión de un órgano (incluyendo acidosis metabólica, hipoxemia arterial, oliguria, coagulopatía o trombopenia y encefalopatía).

Finalmente, Se define **shock séptico** como la presencia de hipotensión arterial mantenida durante al menos 1 hora a pesar de la administración de fluidos en asociación con signos de hipoperfusión o disfunción de órgano, siendo de origen infeccioso.

Recientemente se han revisado estos conceptos, y se ha propuesto que se considere sepsis solamente a aquellos cuadros de infección en los que la respuesta del huésped se considera anómala por causar fallo de un órgano, y que vendría definido por un aumento en dos puntos en la escala SOFA (Singer 2016). Existe actualmente controversia sobre si estos criterios deben sustituir a los anteriores, que han sido los utilizados en esta tesis doctoral.

2.2. INFECCIONES INVASIVAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS. FACTORES DE RIESGO DE COLONIZACIÓN E INFECCIÓN.

En general, los factores de riesgo generales de adquisición de EPC son similares a los de otros patógenos multirresistentes como enterobacterias productoras de BLEE, *Staphylococcus aureus* meticilín-resistente, etc. Las situaciones que implican

mayor relación con la asistencia sanitaria y el uso de antibióticos, así como la susceptibilidad individual a padecer infecciones son factores de riesgo independientes identificados para la colonización e infección por EPC.

Existen numerosos estudios a este respecto pero, en muchos casos, los datos provienen de trabajos realizados con metodología diversa y en distintas situaciones epidemiológicas y, por tanto, no siempre comparables entre sí. No obstante, en una revisión exhaustiva de estudios de casos y controles, cohortes retrospectivos, descripciones retrospectivas de brotes y estudios de vigilancia se han podido identificar los siguientes factores de riesgo relacionados con colonización/infección por EPC (Paño 2014):

- Uso previo de antibióticos (betalactámicos de amplio espectro/carbapenémicos, fluorquinolonas, aminoglucósidos, metronidazol, vancomicina) y duración del tratamiento antibiótico.
- Comorbilidades: Diabetes mellitus, tumores malignos, enfermedad neurológica, trasplante órgano sólido o progenitores hematopoyéticos, pluripatología medida por el índice de Charlson; en pacientes pediátricos: prematuridad, enterocolitis necrotizante.
- Situación aguda grave (medida como alta puntuación en escalas APACHE o SOFA).
- Procedimientos invasivos (cirugía, catéter intravenoso/sonda uretral, ventilación mecánica /traqueostomía).
- Factores relacionados con la hospitalización: ingreso en Unidad de Cuidados Intensivos, traslado entre unidades/hospitales, compartir habitación con paciente colonizado, estancia hospitalaria prolongada.
- Vivir en residencias asistidas/centros de larga estancia.
- Haber viajado a países con alta prevalencia, sobre todo si se ha estado hospitalizado.

En general se considera que la colonización precede a la infección; así, los factores de riesgo para la colonización deben estar relacionados con la exposición a estos

microorganismos (presión de colonización, necesidad de cuidados que condiciona mayor frecuencia de contacto, uso de antimicrobianos selectores, etc).

La proporción de pacientes que desarrollan infección tras la colonización por EPC depende de las características del paciente, de la realización de procedimientos invasivos y de la virulencia de la propia enterobacteria en concreto. Aunque los datos a este respecto son muy limitados, se estima que entre un 10% y un 30% de los pacientes colonizados desarrollarán una infección por EPC (Tzouveleki 2012).

En un estudio multicéntrico italiano de pacientes colonizados por *K. pneumoniae* resistentes a carbapenemas (96% productores de KPC), los factores de riesgo asociados con el desarrollo de bacteriemia fueron la estancia en UCI, la realización de un procedimiento invasivo abdominal, tratamiento quimioterápico o radioterápico, y estar colonizado en más de una localización (Giannella 2014).

2.3. FOCOS DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS.

Un porcentaje no desdeñable de infecciones por EPC cursan con bacteriemia: en un estudio español de cohortes prospectivo reciente, el 10% de las infecciones causadas por EPC en pacientes hospitalizados fueron bacteriémicas (Palacios-Baena 2016). Entre los pacientes con sepsis causadas por estas bacterias, un estudio realizado en Córdoba en el contexto de un brote causado por *K. pneumoniae* productor de KPC encontró que el 36% de los pacientes presentaban bacteriemia (González-Padilla 2015). El origen de las bacteriemias es muy variable según los estudios disponibles hasta la fecha, probablemente por la heterogeneidad de dichos estudios en cuanto a la población estudiada y tipo de centro hospitalario, pero también por las diferencias en la metodología utilizada.

La bacteriemia primaria es el origen más frecuentemente observado en estas infecciones, aunque algunos estudios incluyen en este tipo las relacionadas con catéter (Neuer 2011, Zarcotou 2011) tal como hacía anteriormente la clasificación

tradicional del Center for Diseases Control and Prevention (CDC) de Estados Unidos. En segundo lugar parecen estar las bacteriemias de origen respiratorio, las bacteriemias de origen urinario y las relacionadas con catéter (Daikos 2014; Tumbarello 2012).

No obstante, en aquellos estudios que incluyen un mayor número de pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos y sometidos a ventilación mecánica, la infección respiratoria ocupa el primer lugar en cuanto a frecuencia del origen de la bacteriemia (Peleg 2005, Sbrana 2013), y en otros en que predominan las infecciones en servicios convencionales (es decir, excluyendo los de cuidados intensivos), la infección urinaria fue el foco más frecuente (Paño-Pardo 2013, Navarro-San Francisco 2013). Por otro lado, en estudios realizados en pacientes no hospitalizados pero que cumplen criterios de infección relacionada con la atención sanitaria, el origen urinario de las bacteriemias es también más frecuente (Peirano 2014, Qureshi 2014; Paño-Pardo 2016).

2.4. PRONÓSTICO DE LAS BACTERIEMIAS POR EPC. MORTALIDAD GLOBAL

La mayoría de los datos disponibles hasta la fecha muestran una alta mortalidad cruda en los pacientes que sufren una bacteriemia por EPC, que en la mayoría de estudios se sitúa en porcentajes superiores al 35% y hasta del 72%, aunque excepcionalmente se han descrito cifras tan bajas como el 10% (Carmeli 2010; Tumbarello 2012; Qureshi 2012; Zarkotou 2011; Paño-Pardo 2013; Daikos 2014, Villegas 2016; Gomez-Simmonds 2016).

Una vez más, el hecho de que estos estudios sean tan heterogéneos puede explicar estas discrepancias. En concreto las diferencias en las poblaciones de estudio, en sus enfermedades subyacentes y en la gravedad de la infección afectan notablemente en los resultados. Por otro lado, la variabilidad en los criterios usados para definir el evento resultado también justifica las diferencias encontradas.

En cualquier caso, los datos existentes sugieren que las bacteriemias causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas tienen mayor mortalidad atribuible que las causadas por cepas no productoras de estas enzimas. Así, un meta-análisis demostró que las infecciones por EPC se asocian a mayor mortalidad que las infecciones causadas por cepas sensibles, aunque se reconocen las limitaciones de los estudios realizados (Falagas 2014). Otro estudio reciente ha demostrado que las bacteriemias por EPC se asocian con mayor mortalidad que las causadas por cepas productoras de BLEE, controlando por potenciales factores de confusión (Fraenkel-Wandel 2016).

Los factores que se han asociado con la mortalidad en bacteriemias por EPC en distintos estudios son los siguientes:

- Mayor edad (Tzouvelekis 2012, Mouloudi 2010, Zarkotou 2011)
- Comorbilidades: mayor puntuación en índice de Charlson (Ben-David 2012, Capone 2013) o enfermedad subyacente rápidamente fatal (McCabe) (Tzouvelekis 2012, Daikos 2014).
- Gravedad subyacente en el momento de la bacteriemia (índice de Pitt) (Ben-David 2012, Neuer 2011).
- Ingreso en UCI (Tzouvelekis 2012, Capone 2013).
- Presentación como shock séptico (Tumbarello 2012, Daikos 2014).
- Tipo de carbapenemasa: KPC (Mouloudi 2010).
- Tratamiento empírico inadecuado (Tumbarello 2012)
- Persistencia de la bacteriemia (Nguyen 2010).
- No control del foco (Patel 2008, Nguyen 2010).

En estudios que incluyen análisis multivariante, los factores de riesgo de mortalidad independientes encontrados han sido: la gravedad en la presentación de la sepsis (sepsis grave o shock séptico), las enfermedades subyacentes (medidas con los índices de Charlson o de McCabe), el índice de Pitt y la resistencia a otros antibióticos además de los carbapenémicos (Neuer 2011, Ben-David 2012, Capone 2013, Tzouvelekis 2012, Daikos 2014). El retraso en el inicio del tratamiento antibiótico empírico, la inadecuación del mismo, y el tratamiento dirigido en

monoterapia parecen conllevar también mayor riesgo de mortalidad en las bacteriemias por EPC (Daikos 2009, Tumbarello 2012), aunque no en todos los estudios observacionales publicados se ha podido establecer dicho riesgo (Patel 2008, Zarkotou 2011, Daikos 2014, Falagas 2014).

Existen grupos de población específicos en los que, por sus características peculiares, la mortalidad relacionada con bacteriemias por EPC es mayor. Esto ocurre por ejemplo en los receptores de trasplante en los que el riesgo de muerte por infecciones en general es mucho mayor que en otros pacientes, llegando a multiplicarse hasta por 5 en el caso de los trasplantados hepáticos (Kalpoe 2012, Satlin 2014, Johnson 2014). Otro grupo específico son los pacientes oncohematológicos y receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos (Satlin 2013, Satlin 2014, Johnson 2014).

2.5. MANEJO DE LA BACTERIEMIA POR EPC: TRATAMIENTO DE SOPORTE Y CONTROL DEL FOCO

En las bacteriemias por EPC se deben considerar los aspectos generales del manejo clínico de la sepsis. Así, el actuar de forma precoz y adecuada, evitando la progresión del proceso, será fundamental para reducir la morbimortalidad.

Existen diversos protocolos internacionales (fundamentalmente derivados de la campaña “Surviving Sepsis”) (Ddellinger 2008) y nacionales (Documento de consenso de la Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias) (Navarro 2012) que incluyen algoritmos de medidas para el reconocimiento, diagnóstico y tratamiento del paciente séptico con objeto de reducir la mortalidad. Las piedras angulares del manejo de la sepsis en estos documentos son la identificación precoz de la sepsis grave, el tratamiento adecuado y precoz de resucitación (mediante administración adecuada de fluidos, aminos, oxigenoterapia, transfusión sanguínea o ventilación mecánica en función de las necesidades), el control rápido del foco siempre que sea posible y la administración temprana de antimicrobianos activos. Si bien se había postulado que la mejor

manera de mejorar el pronóstico sería administrar las medidas de resucitación para conseguir una serie de objetivos específicos (*goal-directed therapy*), un ensayo aleatorizado reciente ha puesto en duda la necesidad de alcanzar de forma estricta esos objetivos, demostrando que, siempre que se identifiquen precozmente los pacientes con sepsis grave, las medidas clave son la administración intravenosa de fluidos y antibióticos (Mouncey 2015).

3. EL PROBLEMA DEL TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS

El tratamiento de las infecciones causadas por enterobacterias productoras de carbapenemasas es actualmente uno de los retos más difíciles en el ámbito de la microbiología y las enfermedades infecciosas, debido a las escasas opciones terapéuticas existentes. La evidencia disponible procede de estudios *in vitro*, de modelos animales, y en escasos estudios clínicos, la mayoría de los cuales son series de casos o cohortes retrospectivas realizadas en un solo centro (o un número limitado de ellos) y con importantes limitaciones metodológicas. Las recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) tienen en general categoría CII o CIII, lo que indica que la fuerza de la recomendación es en general débil y que principalmente están basadas en estudios con limitaciones o recomendaciones de expertos (Rodríguez-Baño 2015). Por este motivo, lo habitual es que se tomen decisiones individualizadas en cada situación clínica.

3.1. TRATAMIENTO EMPIRICO ANTE LA SOSPECHA DE BACTERIEMIA POR EPC

La terapia antimicrobiana inicialmente inapropiada en infecciones graves como pueden ser aquellas que cursan con bacteriemia y sepsis grave, se asocia con un incremento de la morbimortalidad (Retamar 2012).

De manera parecida, las dos mayores cohortes de pacientes con bacteriemia por EPC publicadas hasta el momento, que incluyeron fundamentalmente casos producidos por *K. pneumoniae* productor de KPC, mostraron una asociación independiente entre el tratamiento empírico activo y una menor mortalidad (Tumbarello 2012; Daikos 2014).

3.2. IMPORTANCIA DE LA PRECOCIDAD DEL TRATAMIENTO DIRIGIDO ACTIVO

En general, las escasas series publicadas han mostrado que el tratamiento dirigido activo es también un factor protector independiente de mortalidad (Zarcotou 2011, Tumbarello 2012, Daikos 2014). Sin embargo, no se especifica en estos estudios cuánto de precoz debe ser el tratamiento activo para causar este efecto. Esto hace que pueda existir en alguno de estos estudios el conocido como “sesgo del superviviente”, dado que el paciente que sobrevive más días tendrá más oportunidades de recibir un tratamiento activo que el que fallece antes.

3.3. MONOTERAPIA O TERAPIA COMBINADA

En algunas de las series publicadas se ha investigado si el tratamiento dirigido combinado de las bacteriemias por EPC es superior a la monoterapia en cuanto a reducción de mortalidad. Sin embargo, los regímenes de monoterapia o terapia combinada que se han analizado son muy diversos. Además estos resultados pueden estar influenciados por otros factores pronósticos, como la gravedad o localización de la infección, las comorbilidades de los pacientes y otros que deben tenerse en cuenta a la hora de analizar los resultados. De nuevo, el sesgo del superviviente puede ser un factor a considerar (los pacientes supervivientes tendrán más oportunidad de recibir un tratamiento combinado).

Una amplia revisión publicada en 2012 recopiló 34 artículos con un total de 298 pacientes infectados por EPC (principalmente *K. pneumoniae* productor de enzimas tipo KPC y MBL). Una gran mayoría de pacientes tenía infecciones invasivas y el 81% presentaba bacteriemia. Se encontró una menor tasa de fracaso terapéutico en pacientes que recibieron terapia combinada que incluía un carbapenem, en comparación con otros regímenes de tratamiento combinado que no incluían un carbapenem y a la monoterapia con colistina y tigeciclina. Las tasas de fracaso terapéutico con estas pautas de monoterapia fueron comparables a las de recibir tratamiento inapropiado (Tzouveleki 2012). Sin embargo, es necesario señalar que los datos se analizaron de manera agregada, sin realizar técnicas meta-analíticas,

por lo que no se tuvieron en cuenta el tamaño muestral de los estudios, la heterogeneidad de los mismos o la posibilidad de sesgos de publicación.

Hasta la fecha no existen estudios aleatorizados que hayan comparado la monoterapia con la terapia combinada. Se han publicado varios estudios retrospectivos de cohortes que han utilizado análisis multivariantes para controlar el efecto de otras variables en la mortalidad. En varias cohortes que incluyeron pacientes con bacteriemia, el tratamiento combinado se asoció con menor mortalidad con respecto a la monoterapia controlando por otras variables predictoras de mortalidad (Qureshi 2012; Tumbarello 2012; Daikos 2014); resultados similares se obtuvieron en un estudio que incluyó infecciones no bacteriémicas (Tumbarello 2015). En algunas de estas series, el incluir un carbapenémico como meropenem a dosis elevadas en el régimen combinado fue un factor determinante para la mejora del pronóstico si la cepa mostraba una CMI relativamente baja a estos fármacos, en general ≤ 8 mg/L (Tumbarello 2012; Daikos 2014). Algunos meta-análisis realizados al respecto que incluyeron otros gramnegativos (no solo enterobacterias) han concluido que la calidad de los estudios es limitada y que hacen falta buenos estudios que aporten más información (Paul 2014, Zusman 2016), aunque el tratamiento combinado podría ser mejor que la monoterapia en algunos pacientes (Falagas 2014, Ni 2015). Recientemente se ha publicado otro estudio en el que no se ha encontrado que el tratamiento combinado sea superior a la monoterapia (Gómez-Simmonds 2016).

3.4. ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS ACTUALES

Carbapenémicos

Una proporción significativa de EPC es sensibles in vitro a imipenem, meropenem o doripenem (raramente a ertapenem) en base a los puntos de cortes actuales, o bien, muestran bajos niveles de resistencia. En estudios animales el tratamiento con carbapenemas ha demostrado una reducción del recuento bacteriano, en infecciones por enterobacterias productoras de VIM y NDM, (Daikos 2007, Souli

2011, Wiskirchen 2014), pero no en infecciones por enterobacterias productoras de KPC (Bulik 2010).

Algunos estudios clínicos han mostrado peores resultados en infecciones invasivas por EPC sensibles a carbapenémicos cuando se han tratado en monoterapia con estos fármacos (Tzouveleki 2012). Sin embargo, la combinación con otros fármacos activos parece asociarse con mejor pronóstico. Esto sería así para cepas con una CMI “alcanzable” mediante optimización de la dosificación del carbapenémico. Así, mediante modelos de Monte Carlo, se ha podido estimar que la probabilidad de alcanzar el parámetro farmacodinámico predictor de eficacia (tiempo sobre la CMI >50%) sería de alrededor del 80% para cepas con CMI de hasta 8 mg/L cuando se usa meropenem a dosis de 2 g cada 8 horas en perfusión de 3 horas (Daikos 2011). En el caso de imipenem existiría el problema de aparición de efectos adversos cuando se usan dosis más altas, además de la falta de estabilidad para su uso en perfusiones prolongadas.

En modelos in vitro de infecciones por *K. pneumoniae* productor de KPC-3 se ha demostrado la mayor actividad bactericida de doripenem al administrarlo concomitantemente con ertapenem, en relación con una alta afinidad de KPC por ertapenem (Bulik 2011). No obstante, la experiencia clínica con el uso de terapia dual con carbapenémicos (doripenem o meropenem más ertapenem) se limita a casos esporádicos y es aún escasa (Giamarellou 2013, Ceccarelli 2013).

En conclusión, los datos disponibles hasta la fecha apuntan a que no es recomendable el uso de carbapenémicos en monoterapia en infecciones invasivas graves, aunque probablemente se podría considerar su uso a dosis óptimas en algunos pacientes de bajo riesgo.

Otros betalactámicos

Las MBL no hidrolizan **aztreonam**, por lo que este antibiótico podría ser una alternativa terapéutica útil en las infecciones por enterobacterias productoras de

esta clase de carbapenemasas. No obstante, en numerosas ocasiones estos aislados poseen otros mecanismos de resistencia añadidos como puede ser la producción de BLEE, lo que les confiere resistencia a este antibiótico y limita así su utilidad. No hemos encontrado estudios clínicos que exploren la eficacia de aztreonam frente a cepas sensibles, productoras de MBL.

Ceftazidima ha mostrado ser incluso más eficaz que imipenem, ertapenem o piperacilina-tazobactam en modelos animales frente a aislados productores de OXA-48 no productores de BLEE (Mimosz 2012). Hacen falta estudios que demuestren su utilidad en la práctica clínica. Además, la mayoría de los aislados productores de OXA-48 también lo son de BLEE o AmpC, lo cual aporta resistencia a esta cefalosporina.

Avibactam es un nuevo inhibidor de betalactamasas no betalactámico perteneciente a una nueva clase de inhibidores. Inhibe las betalactamasas de clase A, C y algunas de clase D, en concreto OXA-48. Debido a que su mecanismo de acción radica en la unión covalente al centro activo serina de la betalactamasa, este inhibidor de betalactamasas no es activo frente a las metalobetalactamasas.

Ceftazidima-avibactam ha demostrado actividad *in vitro* frente a aislados de *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE, AmpC y KPC. Ceftarolina-avibactam, por su parte, también es activa frente a enterobacterias productoras de BLEE, AmpC, carbapenemasas de clase A y algunas de clase D, además de frente a *S. aureus* resistente a meticilina. Ambas combinaciones han demostrado su eficacia en modelos animales. Se han realizado ensayos clínicos en fase II de ambas combinaciones con buenos resultados en términos de respuesta clínica y de aparición de efectos adversos. Para la primera combinación existen también datos de ensayos clínicos en fase III en infecciones urinarias (Wagenlehner 2016) y en infecciones causadas por enterobacterias y *P. aeruginosa* resistentes a ceftazidima. Asimismo se están desarrollando ensayos en fase II que asocian aztreonam, combinación que añadiría la actividad de este último frente a cepas productoras de MBL (Carmeli 2016).

Temocilina podría ser de utilidad en el tratamiento de infecciones producidas por algunas enterobacterias productoras de KPC (no así en aquellas productoras de OXA-48 ni de MBLs) que presenten CMI moderadamente bajas (Woodford 2014). Además es estable frente a BLEEs y AmpC. Desgraciadamente, la mayoría de las cepas presentan CMI muy elevadas. La experiencia clínica en su uso como tratamiento de estas infecciones, de nuevo, es muy escasa.

Polimixinas

Estos fármacos normalmente son activos frente a las EPC, aunque la frecuencia de resistencia a los mismos también está en aumento; recientemente se ha descrito un mecanismo de resistencia plasmídico (MCR), lo que supone una preocupación adicional (Liu 2016). Existen dos polimixinas disponibles para su uso sistémico, la polimixina E (o colistina) y la polimixina B. En general existe más experiencia publicada con colistina, que además es la que se encuentra comercializada en Europa (Plachouras 2009).

Durante años se ha utilizado colistina de forma probablemente inadecuada, al administrarse dosis que actualmente consideramos infraterapéuticas. Existe controversia sobre si la eficacia clínica de colistina es equivalente a la que ofrecerían los betalactámicos de ser activos, aunque una limitación sería la toxicidad renal (Garonzik 2011). En cualquier caso, colistina se ha convertido en un antibiótico fundamental para el tratamiento de las infecciones invasivas por algunas EPC (Rodríguez-Baño 2015).

Aminoglucósidos

Una considerable proporción de EPC permanece sensible a este grupo de antibióticos; esto es menos frecuente en cepas productoras de NDM, que frecuentemente son también productoras de una metiltransferasa con actividad frente a todos los aminoglucósidos de uso clínico (Doi 2016). De manera general y

sin considerar específicamente las EPC, los aminoglucósidos en monoterapia han demostrado su utilidad en el tratamiento de infecciones del tracto urinario, pero se consideran menos eficaces que otros fármacos para otros tipos de infecciones (Paul 2014).

Un estudio reciente realizado en Córdoba mostró la utilidad de gentamicina en infecciones por *K. pneumoniae* productor de KPC y resistentes a colistina; los pacientes tratados con gentamicina tuvieron menor mortalidad que los que no se trataron con este fármaco, tras ajustar por otras variables (González-Padilla 2015).

No está claro si puede recomendarse su uso en monoterapia en infecciones no complicadas (infecciones del tracto urinario, bacteriemias relacionadas con catéter siempre que se haya retirado el mismo, etc) causadas por cepas sensibles; en otros casos parece aconsejable su uso en combinación.

Fosfomicina

Un porcentaje elevado de los aislados de EPC permanece en la actualidad sensible a fosfomicina. Este fármaco presenta una buena penetración en tejidos y escasa toxicidad. El problema de este antibiótico es el desarrollo de resistencia durante su uso en monoterapia (Falagas 2008). Los estudios en los que se usa este fármaco en combinación son muy heterogéneos pero, posiblemente, su uso en combinación podría prevenir el desarrollo de resistencia (Giamarellou 2010). Hacen falta estudios controlados para conocer bien la potencial utilidad de este antimicrobiano en estas infecciones.

Tigeciclina

Tigeciclina no se ve afectada por las carbapenemasas por lo que la mayoría de las EPC permanecen sensibles a este fármaco. Como en el caso anterior, se ha descrito el desarrollo de resistencia a tigeciclina durante el tratamiento en monoterapia (Nguyen 2010, Kelesidis 2008).

Este fármaco alcanza bajas concentraciones en el torrente sanguíneo y por tanto en pulmón o en orina, lo que podrían justificar el fracaso terapéutico en este tipo de infecciones (Tasina 2011). No obstante, en ocasiones es la única alternativa activa en microorganismos multirresistentes (MDR) o extremadamente resistentes (XDR). En la actualidad se están llevando a cabo ensayos con dosis superiores de este fármaco con la idea de mejorar su penetración en tejidos.

Normalmente se ha usado en combinación con uno o dos fármacos más con diferentes resultados en casos en los que no se dispone de ninguna otra alternativa activa.

3.5. POSIBLES ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS FUTURAS

De lo anteriormente expuesto se deduce que existe una necesidad urgente de disponer de nuevos antimicrobianos para tratar las infecciones por enterobacterias productoras de carbapenemasas. Actualmente hay varios fármacos en investigación, en distintos estadios de desarrollo.

Nuevos inhibidores de betalactamasas

- Relebactam (MK-7655) es otro nuevo inhibidor de betalactamasas cuyo mecanismo de acción es similar al avibactam. Se han completado ya ensayos clínicos en fase II para este nuevo fármaco asociado a imipenem. Parece ser de utilidad en carbapenemasas de clase A y C, y en menor medida frente a OXA-48.
- Vaborbactam (RPX7009) es otro nuevo inhibidor de betalactamasas que al poseer ácido borónico en su composición inhibe las serin-carbapenemasas. No es útil frente a metalobetalactamasas ni frente a carbapenemasas de clase D. Hay ensayos en fase I de este inhibidor en combinación con meropenem (Griffith 2016).

- Existen varios derivados del ácido maleico que se han patentado como inhibidores, con distinta actividad, frente a las MBL. Han demostrado su sinergia con ceftazidima y con carbapenémicos en cepas productoras de VIM y de IMP.

Nuevos aminoglucósidos

Plazomicina es un aminoglucósido de nueva generación. Ha demostrado eficacia frente a diversos microorganismos gramnegativos multirresistentes aunque también frente a *S. aureus* resistente a meticilina. En modelos animales ha demostrado su eficacia clínica así como ausencia de nefrotoxicidad y ototoxicidad (Galani 2012).

BAL30072

Es un antibiótico monosulfactam sideróforo activo frente a la mayoría de bacterias gramnegativas. A diferencia del aztreonam, conserva actividad frente a microorganismos productores de BLEE o AmpC. Actualmente se encuentra en ensayos clínicos en fase I. Se está estudiando en combinación con ácido clavulánico y con meropenem.

Eravaciclina (TP-434)

Es una nueva tetraciclina totalmente sintética con actividad hasta cuatro veces superior a tigeciclina. Ha demostrado su eficacia en modelos animales, aunque son necesarios estudios que demuestren su eficacia en infecciones por patógenos resistentes a carbapenémicos, así como estudios que demuestren su seguridad.

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. JUSTIFICACIÓN

Se plantea esta tesis doctoral para determinar las características de las bacteriemias por EPC en distintos tipos de pacientes, definir un modelo que permita predecir el pronóstico de estos pacientes y evaluar el impacto del tratamiento combinado vs monoterapia en distintos grupos de pacientes.

2. HIPÓTESIS

- Las bacteriemias por EPC ocurren habitualmente en pacientes predispuestos y presentan una alta mortalidad cruda.
- Puede definirse y validarse un *score* predictor de mortalidad basado en parámetros accesibles para el clínico, que pueden ser medidos en el momento del diagnóstico de la bacteriemia por EPC.
- El tratamiento activo precoz en las bacteriemias por EPC se asocia con una menor mortalidad y, el tratamiento combinado puede ser superior a la monoterapia sólo en algunos subgrupos de pacientes.

3. OBJETIVOS

- Describir las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con bacteriemia por EPC.
- Definir y validar un *score* predictor de mortalidad que sea fácil y práctico en su aplicación en el momento del diagnóstico.

- Comparar el efecto del tratamiento combinado vs monoterapia sobre la mortalidad en base a la clasificación de riesgo obtenida en el *score* previamente definido.

MATERIAL Y MÉTODO

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

El proyecto INCREMENT es un estudio multicéntrico e internacional (37 centros participantes de 12 países), retrospectivo y coordinado desde el Hospital Universitario Virgen Macarena, creado con el propósito de evaluar la eficacia de diferentes regímenes de tratamiento antibiótico en el tratamiento de las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE o carbapenemasas. En este trabajo se analizan sólo los casos causados por cepas de EPC. Los centros participantes se muestran en la Tabla 3, y fueron seleccionados por su prestigio en el estudio clínico y microbiológico de infecciones por estos microorganismos, en base a publicaciones en revistas científicas al respecto, y a una encuesta de viabilidad previa, en la que los centros garantizaban disponer de datos microbiológicos y clínicos que permitieran la detección de casos y la recogida de las variables de interés.

Las hipótesis, objetivos y plan estadístico del proyecto se habían desarrollado y registrado en ClinicalTrials.gov con anterioridad a la recolección de los datos (identificador: NCT01764490). Para la comunicación de los resultados se han seguido las recomendaciones STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology, von Elm 2007), ver Anexo 4.

Tabla 3. Centros participantes en el proyecto INCREMENT

CENTRO	PAÍS
1 Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla	ESPAÑA
2 Hospital Universitario Virgen Arrixaca de Murcia, Murcia	ESPAÑA
3 Hippokration Hospital Thessaloniki, Thessaloniki	GRECIA
4 University of Pittsburgh, Pittsburgh	EE.UU.
5 Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Parana	BRASIL
6 Wits Donald Gordon Medical Centre, Johannesburg	SUDÁFRICA
7 National Taiwan University Hospital, Taiwan	TAIWAN
8 Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona	ESPAÑA
9 Hospital 12 de Octubre, Madrid	ESPAÑA
10 Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona	ESPAÑA
11 Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla	ESPAÑA
12 Hospital Español, Rosario	ARGENTINA
13 Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca	ESPAÑA
14 Hospital Marqués de Valdecilla, Santander	ESPAÑA
15 Hospital Clinic, Barcelona	ESPAÑA
16 Hospital Bellvitge, Barcelona	ESPAÑA
17 Medical School, University of Thessaly Larissa, Atenas	GRECIA
18 Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv	ISRAEL
19 Baskent University Faculty of Medicine, Ankara	TURQUÍA
20 University General Hospital Attikon, Chaidari	GRECIA
21 Department of Medicine, University of Calgary, Calgary	CANADA
22 Hospital Universitario Reina Sofia, Córdoba	ESPAÑA
23 Hacettepe University School of Medicine, Ankara	TURQUÍA
24 Hospital La Paz, Madrid	ESPAÑA
25 Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH	EE.UU.
26 Universitätsklinikum Köln, Cologne	ALEMANIA
27 Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, A Coruña	ESPAÑA
28 Hospital Ramón y Cajal, Madrid	ESPAÑA
29 Teaching Hospital Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna	ITALIA
30 Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen	ALEMANIA
31 Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona	ESPAÑA
32 Policlinico Umberto I, University of Rome La Sapienza	ITALIA
33 Hospital Parc Taulí, Sabadell, Barcelona	ESPAÑA
34 National and Kapodostrian University Hospital, Atenas	GRECIA
35 Hygeia General Hospital, Atenas	GRECIA
36 Catholic University of the Sacred Heart, Roma	ITALIA
37 Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, Brisbane	AUSTRALIA

2. PERÍODO DE ESTUDIO

Por cada uno de los centros participantes se consideraron elegibles los episodios registrados entre enero de 2004 y diciembre de 2012 con los criterios de inclusión especificados más abajo.

La base de datos online para la inclusión de los casos por los centros participantes estuvo habilitada de Enero a Diciembre de 2013.

3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN. DETECCIÓN DE CASOS

En la cohorte INCREMENT se incluyeron episodios consecutivos de bacteriemias monomicrobianas por enterobacterias productoras de BLEE o carbapenemasa clínicamente significativas, tanto de adquisición comunitaria como nosocomial. Para este trabajo sólo se consideraron elegibles los episodios causados por EPC (con o sin BLEE) de la cohorte INCREMENT, por lo que en adelante solo se hará referencia a éstas.

Criterios de inclusión:

Episodios de bacteriemia clínicamente significativos causados por una EPC, sin límites de edad. Se consideró como clínicamente significativa aquella bacteriemia que se acompañó de criterios de respuesta inflamatoria (Levy 2003).

Criterios de exclusión:

Los episodios subsecuentes ocurridos en un mismo paciente se excluyeron si el intervalo de tiempo entre los episodios fue menor a 3 meses. Además, se excluyeron los episodios de bacteriemias polimicrobianas y los causados por cepas de enterobacterias resistentes a carbapenemasas en los que no se demostrara la existencia de genes codificantes de carbapenemasas.

3.1. CRITERIOS ESPECÍFICOS DE EXCLUSIÓN PARA LA ELABORACIÓN DEL MODELO Y SCORE PREDICTIVOS DE MORTALIDAD

Para este análisis se excluyeron los casos en los que faltaban datos clave y aquellos que fallecieron antes de las 48h. Los pacientes incluidos fueron asignados de forma aleatoria a dos cohortes: la cohorte de derivación (CD), que incluyó 2/3 de los pacientes y se usó para construir el modelo predictivo; y la cohorte de validación (CV), que incluyó el resto de los pacientes y se usó para validar el modelo.

3.2. CRITERIOS ESPECÍFICOS DE EXCLUSIÓN PARA LA EVALUACIÓN DEL TIPO DE TRATAMIENTO

En este caso se excluyeron los pacientes para los que faltaban datos clave del tratamiento, aquellos fallecidos en <24 horas y aquellos en los que la bacteriemia se diagnosticó cuando el paciente estaba recibiendo un tratamiento activo durante más de 2 días. Este último grupo de pacientes se excluyó de la evaluación por la dificultad que plantea el análisis del impacto del tratamiento en bacteriemias de brecha.

4. VARIABLES Y DEFINICIONES

Los datos fueron recogidos mediante la revisión de historias clínicas y de las bases de datos en cada centro en una base electrónica disponible en internet mediante acceso restringido personalizado. La base fue revisada para evaluar su consistencia y datos faltantes; para todos los casos de datos faltantes o no consistentes se remitieron consultas (*queries*) a los centros hasta en 3 ocasiones.

4.1. VARIABLES RESULTADO

La variable resultado principal fue la mortalidad por cualquier causa. Para el análisis del modelo predictivo y cálculo del *score* de mortalidad se utilizó la mortalidad (como variable dicotómica, sí/no) a los 14 días como variable resultado principal dado que se pretendía evaluar una variable resultado lo más relacionada con la infección posible; la mortalidad a los 30 días se utilizó como variable resultado secundaria. Para la comparación de la mortalidad en función del tratamiento con monoterapia o combinado se utilizó como variable resultado el tiempo hasta la muerte o fin de seguimiento (30 días) para explorar la precocidad de las diferencias en mortalidad, si las hubiera. Se consideró día 0 al día en que se tomó el hemocultivo (día 0).

4.2. VARIABLES EXPLICATIVAS

- Demográficas: Los datos recogidos de cada paciente fueron edad, sexo, raza, hospital y tipo de servicio de ingreso.
- Tipo de adquisición de la infección. Se consideró adquisición nosocomial si el inicio de los síntomas ocurrió después de 48 horas de ingreso o en las primeras 48 horas posteriores al alta hospitalaria. El resto de los casos se consideró comunitaria.
- Enfermedades crónicas del paciente y su gravedad. Se recogieron las condiciones basales de los pacientes y su gravedad siguiendo el índice de Charlson (Charlson 1987) y la clasificación de McCabe.

- La gravedad de la situación basal aguda medida según el índice de Pitt (Hilf 1989), medido retrospectivamente el día antes de la bacteriemia (día -1).
- La gravedad del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica en el primer día se clasificó en sepsis, sepsis grave y shock séptico en función de los criterios internacionales (Levy 2003).
- Origen o foco de la bacteriemia. Se clasificó en función de criterios clínico-microbiológicos.
- Tratamiento antimicrobiano. Las definiciones y asignación de la exposición a los distintos tratamientos (se explican con detalle en el apartado 4.3).
- Variables microbiológicas: especie bacteriana, tipo de carbapenemasa, sensibilidad a los antimicrobianos administrados (se explica con detalle en el apartado 4.4).

Además de las enfermedades de base referidas en la historia clínica, en algunas ocasiones se consideraron datos clínicos y analíticos recogidos para formular el diagnóstico de las mismas. Diabetes mellitus: uso de fármacos antidiabéticos (orales o insulina). Enfermedad pulmonar crónica: cualquier enfermedad que cause insuficiencia respiratoria crónica. Infarto de miocardio: evidencia en electrocardiograma. Insuficiencia cardíaca congestiva: si se evidencia un grado NYHA II o mayor. Enfermedad arterial periférica: si causa úlcera cutánea o precisa revascularización o amputación. Demencia: si limita de manera significativa la independencia para las actividades básicas de la vida. Enfermedad del tejido conectivo: si requiere tratamiento inmunosupresor. Enfermedad hepática: hepatitis crónica, fibrosis significativa o cirrosis. Enfermedad renal: aclaramiento de creatinina <30 ml/min o necesidad de cualquier tipo de diálisis crónica. Tumor: cualquier enfermedad maligna que requiera quimioterapia, radioterapia o tratamiento paliativo.

En cuanto a la clasificación de McCabe, las condiciones crónicas se clasificaron en no fatales (ausencia de enfermedad crónica de base, o enfermedad para la que la muerte no es esperable en los próximos 5 años), últimamente fatal (es esperable el

fallecimiento como consecuencia de la enfermedad en menos de 5 años) o rápidamente fatal (la muerte es esperable en el próximo año).

4.3. VARIABLE TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

Se consideró tratamiento **empírico** aquel que se administró antes de que el informe de sensibilidad estuviera disponible.

Se consideró tratamiento **dirigido** aquel que se administró después de que el informe de sensibilidad estuviera disponible.

Se consideró el tratamiento antibiótico como **adecuado** cuando incluyó al menos un fármaco activo in vitro.

En base a estos criterios se definieron las siguientes variables:

- **Tratamiento empírico adecuado:** el tratamiento empírico que incluía al menos un fármaco activo y que se inició en las primeras 48h desde la obtención del hemocultivo.
- **Tratamiento dirigido adecuado:** el tratamiento dirigido que incluía al menos un fármaco activo iniciado en los primeros 5 días tras la obtención del hemocultivo y además se hubiera mantenido al menos durante el 50% del tiempo total de tratamiento. En aquellos pacientes que fallecieron en las primeras 48h desde el inicio del tratamiento, se tuvieron en cuenta sólo aquellos tratamientos que se administraron al menos durante un día completo.
- Para la elaboración del *score* predictivo, se definió la variable **tratamiento dirigido precoz** como aquel tratamiento que se estaba administrando en el día 3 (bien se iniciara el día 3 o bien se administrara como tratamiento empírico y no fuera modificado el día 3), considerándose **adecuado** si incluyó al menos un fármaco activo.

Se consideró tratamiento con **monoterapia** cuando el tratamiento incluía un sólo fármaco activo y **tratamiento combinado** cuando el tratamiento incluía dos o más fármacos activos.

Para conocer el impacto del retraso de la administración de un tratamiento activo también se evaluó el número de días hasta la administración del primer antibiótico activo desde el día índice.

4.4. VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

La identificación de los microorganismos, los estudios de sensibilidad y la detección de genes codificantes de carbapenemasas se realizó en cada centro, siguiendo técnicas microbiológicas estandarizadas (Jorgensen 2015).

La producción de carbapenemasa se determinó en cada centro mediante técnicas fenotípicas de screening y confirmación recomendadas por el CLSI o EUCAST (CLSI 2012, EUCAST 2012); la caracterización del gen codificante de la carbapenemasa se realizó mediante técnicas de PCR y/o secuenciación.

El estudio de sensibilidad se realizó en cada centro mediante técnica de microdilución con sistemas automatizados o semiautomatizados o mediante técnica de difusión en agar con discos o tiras de e-test. Los resultados de sensibilidad se interpretaron siguiendo los criterios establecidos por CLSI (CLSI 2012). Para aquellos microorganismos aislados con anterioridad a 2012 se revisó cada caso y se adaptó la categoría clínica a dichos criterios si la concentración mínima inhibitoria (CMI) estaba disponible; cuando no se dispuso del valor de la CMI se consideró la categoría clínica informada por cada laboratorio. Dado que el tratamiento con imipenem o meropenem se ha asociado con mejores resultados en aquellos aislados con CMI ≤ 8 mg/L, éstos antibióticos fueron considerados como “activos” para esos valores de CMI.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el objetivo 1 se realizaron simplemente análisis descriptivos. En general, las variables continuas se expresan como medianas y rango o rango intercuartílico, y las variables cualitativas como porcentajes.

5.1 DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL SCORE PREDICTIVO DE MORTALIDAD.

Para el desarrollo del *score* de mortalidad, todas las variables continuas y policotómicas fueron dicotomizadas usando análisis tipo CART (árboles de clasificación y regresión) en función de su asociación con la mortalidad (Tabla 4 y Anexo 4). Las cuatro categorías de tratamiento antimicrobiano posibles (obtenidas de combinar tratamiento empírico y definitivo adecuado e inadecuado) fueron agrupadas mediante análisis CART en dos: tratamiento definitivo precoz adecuado (con o sin tratamiento empírico adecuado) y tratamiento empírico y definitivo precoz no adecuados (Anexo 4). El periodo de estudio también se dicotomizó para controlar posibles cambios en la forma de manejo clínico con el tiempo entre los periodos con mayor o menor mortalidad. Finalmente, para controlar el efecto centro, los hospitales participantes se dividieron en dos, aquellos con menor mortalidad y aquellos con mayor mortalidad controlando por el resto de variables mediante TreeNet (Salford Systems) (Anexo 4). Las variables “periodo de estudio” y “centro” se incluyeron en los análisis sólo para poder obtener un modelo predictivo en el que su efecto estuviera controlado, pero no se utilizaron para el cálculo del *score*.

Tabla 4. Dicotomización de las variables según el análisis CART en función de su asociación con la mortalidad.

Variable	Agrupación según criterio CART	
	Mayor riesgo de mortalidad	Menor riesgo de mortalidad
Edad, años	≥70 ¹	<70
Enterobacteriaceae	<i>Klebsiella pneumoniae</i> .	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp.
Tipo de carbapenemasa	OXA	KPC, VIM, NDM, IMP
Origen de la bacteriemia	Distinto de urinario o biliar	Urinario o biliar
Planta de Hospitalización	UCI	Cualquier otra
Índice de Charlson	≥2	<2
Nivel de conciencia	Estuporoso (o desorientado)	Alerta
Hepatopatía crónica	Si	No
Cáncer	Leucemia, cáncer metastásico	No o cualquier otro cáncer (incluyendo linfoma)
Índice de Pitt	≥6	<6
Gravedad de SRIS	Sepsis grave o shock	sepsis
Tratamiento antibiótico	Tratamiento empírico y definitivo precoz no adecuados	Tratamiento empírico adecuado o no y tratamiento definitivo precoz adecuado
Período de estudio	2004-2011	2012-2013
Centro ²	Hospital codes: 4, 5, 6, 7, 14, 17, 24, 31, 43, 45, 46	Hospital codes: 1, 3, 9, 13, 15, 16, 21, 23, 26, 29, 30, 35, 38

¹CART estableció punto de corte en 71,5 años (ver Anexo 4 Figura S1), pero se redondeó finalmente a 70 años para mayor simplicidad en el manejo clínico.

²Agrupados según modelo previo TreeNet, ver Anexo 4.

A continuación se realizaron análisis de regresión logística jerarquizada en bloques (*hierarchical logistic regression*) para determinar aquellas variables asociadas con la mortalidad al día 14 por cualquier causa, en la cohorte de derivación. Para ello, las variables potencialmente relacionadas con el pronóstico se incluyeron de forma secuencial por bloques de variables independientes en el modelo siguiendo un orden preestablecido de inclusión basado en las características de las variables. Antes de la inclusión, se calculó para cada variable el factor de inflación de la varianza (FIV) para controlar la influencia de multicolinealidad; las variables mostraron una baja multicolinealidad (FIV <2, Anexo 4). También se estudiaron potenciales interacciones entre variables mediante análisis con TreeNet y, aquellas con una modificación significativa en el efecto se introdujeron también como bloque independiente (inmediatamente después del último bloque en el que las variables que causaban la interacción se habían incluido).

Aquellas variables que mostraron un valor de $p < 0.05$ en el modelo final se seleccionaron para el cálculo del *score*. El peso de cada variable se calculó dividiendo su coeficiente de regresión (coeficiente β) por la mitad del coeficiente más pequeño de las variables seleccionadas y redondeando al entero más próximo.

A continuación se examinó la capacidad de predicción del modelo calculando el área bajo la curva ROC (AUROC) respecto de los datos de la cohorte, con su intervalo de confianza del 95%; asimismo, se calcularon la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y precisión (Ac) para el modelo global y para los distintos puntos de corte del *score*.

Finalmente, tanto el modelo multivariante obtenido como el *score* se probaron en la cohorte de validación. Estos análisis se realizaron usando el software R (versión 3.0.1), SPSS 15.0 (SPSS Inc.), CART software 7.0 (Salford Systems) y TreeNet (Salford Systems).

5.2 COMPARACIÓN DEL IMPACTO EN MORTALIDAD DEL TRATAMIENTO COMBINADO O MONOTERAPIA

El análisis se realizó en dos pasos: primero se evaluó el impacto del tratamiento precoz adecuado, posteriormente, en los pacientes que habían recibido tratamiento adecuado en los primeros 5 días, se investigó el impacto del tratamiento combinado vs. la monoterapia en la mortalidad. Las variables continuas se compararon mediante el test de U de Mann-Whitney; las variables categóricas para sujetos independientes se compararon mediante el test de Chi cuadrado o el de Fisher si estaba indicado. Las tasas de mortalidad fueron analizadas mediante curvas de supervivencia de Kaplan-Meier y comparadas mediante el test de log-rank. Los periodos de estudio y efecto centro se dicotomizaron de igual manera que en los análisis anteriores. Se realizaron análisis multivariantes mediante regresión de Cox para evaluar de forma independiente el impacto del tratamiento antibiótico sobre la mortalidad, tras haber comprobado que se cumplía el principio de proporcionalidad de los riesgos. Todas las variables con una $p \leq 0.2$ en los análisis univariantes de mortalidad y aquellas variables de especial interés clínico se incluyeron y seleccionaron mediante un método “hacia atrás” según el grado de asociación y el valor biológico. Para cada variable incluida, se calculó el factor de inflación de la varianza (FIV) para controlar la posible colinealidad entre el índice de propensión y otros potenciales factores confusores (Anexo 4).

Para analizar el impacto de la terapia combinada, además, se calculó un índice de probabilidad o propensión (*propensity score*) para recibir tratamiento combinado utilizando un modelo de regresión logística multivariante no parsimonioso en el que la variable resultado era el tratamiento combinado. El índice de propensión se utilizó como covariable en el análisis multivariante y para aparear pacientes. El *score* INCREMENT-CPE para mortalidad desarrollado en el análisis anterior se usó para simplificar en una sola variable el impacto de todos los potenciales confusores (una vez comprobado que el modelo multivariante que incluía el *score* era al menos tan predictivo para la mortalidad como el que incluía todos los confusores

de manera independiente) y para evaluar la interacción entre este *score* (una vez dicotomizado en alto y bajo riesgo de mortalidad) y la terapia combinada respecto a la monoterapia. Por último, se aparearon aquellos pacientes que habían recibido monoterapia con aquellos que habían recibido tratamiento combinado y que tuvieran el mismo valor o el valor más cercano del índice de propensión, con un rango de tolerancia de ± 0.2 de la desviación estándar del logit del índice de propensión. La mortalidad en las parejas apareadas fue analizada mediante un análisis por regresión de Cox usando un estimador robusto de la varianza (estimador de la varianza “*jackknife* aproximado”).

Estos análisis se realizaron usando el software R (versión 3.0.1), SPSS 15.0 (SPSS Inc.), CART software 7.0 (Salford Systems) y TreeNet (Salford Systems).

6. ASPECTOS ÉTICOS Y FINANCIACIÓN

Se trata de un estudio observacional retrospectivo, por lo que la principal cuestión ética que se consideró fue la protección de los datos de los pacientes. Por ello, en la base de datos que se desarrolló, los datos de los pacientes no contienen información personal de los mismos que pudieran identificarlos directa o indirectamente. El acceso a la base de datos sólo se permitía mediante el uso de una clave de acceso individual.

El proyecto INCREMENT en el que se basa este análisis fue clasificado por la Agencia Española del Medicamento (AEMPS; code JRB-ANT-2012-01) como “Estudio post-autorización con otros diseños diferentes al de seguimiento prospectivo”, EPA-OD) y fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Virgen Macarena (código 1921), no considerando necesaria la obtención de consentimiento informado por escrito dada la naturaleza observacional y retrospectiva del estudio (Anexo I). También fue aprobado por los comités de ética de los centros participantes cuando fue necesario.

Este estudio ha sido financiado por la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI), Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III, cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional "Una manera de hacer Europa", FEDER, (REIPI RD12/0015). Asimismo, el estudio ha sido patrocinado por el European Study Group on Bloodstream Infections and Sepsis (ESGBIS) de la European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID).

RESULTADOS

1. COHORTE GLOBAL. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON BACTERIEMIAS POR EPC.

En la base de datos INCREMENT se incluyeron 480 casos de bacteriemias por EPC. Estos procedían de 25 centros hospitalarios de 10 países distintos, siendo los países que más casos aportaron España, Italia, Grecia y Taiwán. Estos datos se muestran en la Figura 1 y en la Tabla 5, respectivamente.

Figura 1. Número de casos de bacteriemias por EPC incluidos en la base de datos del Proyecto INCREMENT en los distintos países.



Tabla 5. Centros participantes en el Proyecto INCREMENT y número de casos incluidos. Datos expresados en número total (%).

CENTRO	CASOS
National Taiwan University Hospital, Taiwan	60 (12.5)
Teaching Hospital Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna	49 (10.2)
Hospital La Paz, Madrid	40 (8.3)
Policlinico Umberto I, University of Rome La Sapienza	35 (7.3)
Catholic University of the Sacred Heart, Roma	31 (6.5)
National and Kapodostrian University Hospital, Atenas	30 (6.3)
University of Pittsburgh, Pittsburgh	27 (5.6)
Hospital Ramón y Cajal, Madrid	27 (5.6)
Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Parana	23 (4.8)
Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv	22 (4.6)
Hospital Universitario Reina Sofia, Córdoba	20 (4.2)
Hygeia General Hospital, Atenas	20 (4.2)
Baskent University Faculty of Medicine, Ankara	17 (3.5)
Hippokration Hospital Thessaloniki, Thessaloniki	14 (2.9)
University General Hospital Attikon, Chaidari	14 (2.9)
Medical School, University of Thessaly Larissa, Atenas	12 (2.5)
Hacettepe University School of Medicine, Ankara	10 (2.1)
Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland	8 (1.7)
Hospital Español, Rosario	6 (1.3)
Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca	4 (0.8)
Hospital Clinic, Barcelona	4 (0.8)
Wits Donald Gordon Medical Centre, Johannesburg	3 (0.6)
Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona	2 (0.4)
Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla	1 (0.2)
Hospital Parc Taulí, Sabadell, Barcelona	1 (0.2)
Total	480 (100)

Los datos demográficos de los pacientes se muestran en la Tabla 6. La edad media de los pacientes incluidos en la base de datos fue de 62 años. El 58.1% de los casos eran hombres. La raza más frecuente fue la caucasiana en el 77.3% de los casos.

En cuanto a la hospitalización de los pacientes, fundamentalmente procedía de plantas médicas (40.2%) y de UCI (36.5%).

Tabla 6. Características demográficas y de hospitalización. Los datos se expresan como número total de pacientes (%) salvo cuando se indica.

Características demográficas y hospitalización		n (%)
Edad mediana en años (RIQ)		66 (54-76)
Sexo masculino		279 (58,1)
Raza		
	Caucasiana	371 (77.3)
	Africana	16 (3.3)
	Asiática	61 (12.7)
	Otra	32 (6.7)
Tipo de servicio		
	UCI	175 (36.5)
	Médico	193 (40.2)
	Quirúrgico	61 (12.7)
	Urgencias	51 (10.6)

RIQ: rango intercuartílico

Las características clínicas de los pacientes se muestran en la tabla 7. La mayoría de las bacteriemias fueron de adquisición nosocomial (88.5%).

En cuanto a las enfermedades de base, cabe destacar que el 31.3 % presentaban diabetes mellitus, el 18.1% enfermedad pulmonar crónica, el 21.9% insuficiencia cardíaca y el 22.9% insuficiencia renal. La mediana para el índice de Charlson fue de 2 (RIQ 1-4) y para el índice de Pitt fue 3 (RIQ 0-5). Un 49% de los pacientes presentaba una enfermedad de base fatal de acuerdo con la clasificación de McCabe. En cuanto al origen de la bacteriemia, la mayor proporción de casos tuvo un origen desconocido (30.2%); el 21.9% tuvieron su origen en una infección de catéter intravascular, seguido por las infecciones urinarias en el 15.2%. En la mitad de los pacientes la infección se presentó en forma de sepsis grave o shock séptico. La mediana de estancia fue de 17 días (RIQ 7-34). La mortalidad a los días 14 y 30 fueron 34.4% y 44% respectivamente.

Tabla 7. Características clínicas y epidemiológicas. Los datos se expresan como número total de pacientes (%) salvo cuando se indica.

Características clínicas y epidemiológicas		n (%)
Adquisición		
	Nosocomial	425 (88.5)
	Comunitaria	55 (11.5)
Enfermedad base		
	Diabetes mellitus	150 (31.3)
	Enfermedad pulmonar crónica	87 (18.1)
	Insuficiencia cardíaca	105 (21.9)
	Insuficiencia Renal	110 (22.9)
	Cáncer sólido metastásico	43 (9)
	Leucemia	45 (9.4)
	Hepatopatía crónica	62 (13)
	Infección VIH	8 (1.7)
Índice de Charlson mediana (RIQ)		2 (1-4)
Índice de Pitt mediana (RIQ)		3 (0-5)
Enfermedad de base fatal (McCabe)		235 (49)
Origen de la bacteriemia		
	Catéter vascular	105 (21.9)
	Infección urinaria	73 (15.2)
	Neumonía	52 (10.8)
	Infección intra-abdominal	50 (10.4)
	Infección biliar	21 (4.4)
	Piel y tejidos blandos	16 (3.3)
	Sistema nervioso central	1 (0.2)
	Otros	17 (3.5)
	Desconocido	145 (30.2)
Sepsis grave / shock séptico		244 (50.8)
Estancia en días, mediana (RIQ)		17 (7-34)
Mortalidad día 14		165 (34.4)
Mortalidad día 30		211 (44)

RIQ: rango intercuartílico

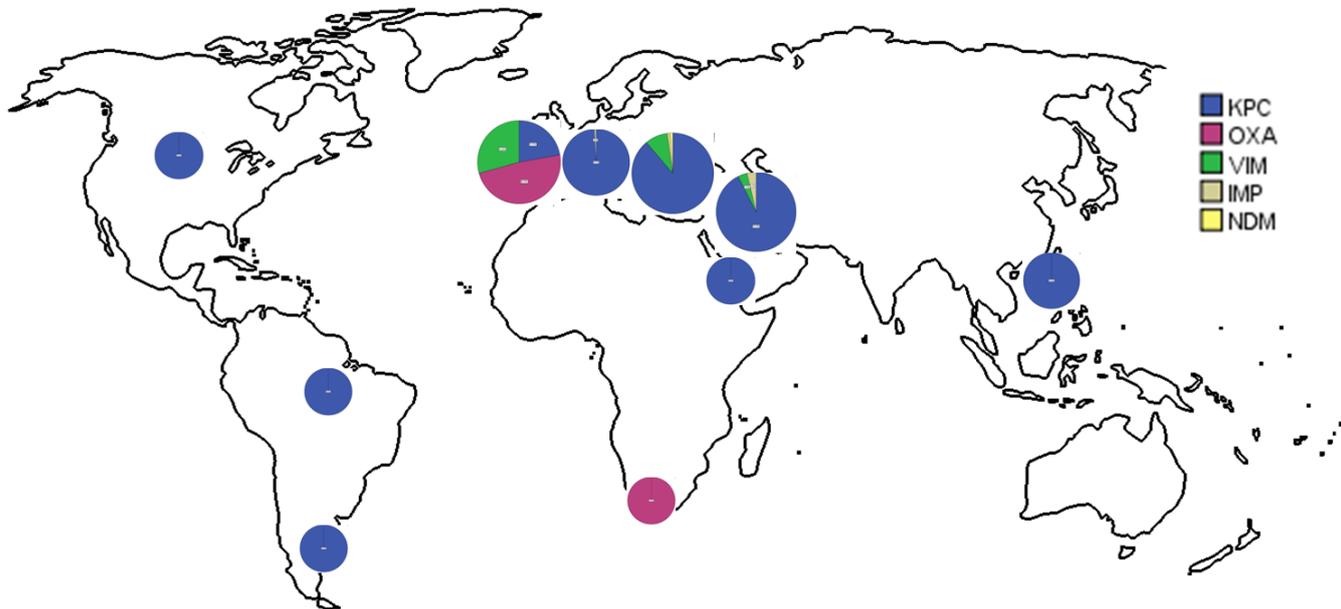
En cuanto a la etiología, el microorganismo más frecuente fue *K. pneumoniae*, con 415 casos (86.5%). Le siguen en frecuencia *Enterobacter* spp con 43 casos (9%) y *E. coli* con 18 (3.8%). KPC fue la carbapenemasa más prevalente con 362 casos (75.4%), le siguieron OXA-48 con 76 casos (15.8%), VIM con 38 casos (7.9%), IMP con 3 casos (0.6%) y 1 caso de NDM (0.2%). La distribución de tipo de carbapenemasa y microorganismos se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Microorganismos y tipo de carbapenemasas. Datos expresados en número total (%).

Microorganismo	Tipo de carbapenemasa					Total
	KPC	OXA	VIM	IMP	NDM	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	317	71	24	3	0	415 (86.5)
<i>Escherichia coli</i>	11	5	1	0	1	18 (3.8)
<i>Enterobacter cloacae</i>	19	0	11	0	0	30 (6.3)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13	0	0	0	0	13 (2.7)
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0	1	0	0	2 (0.4)
<i>Citrobacter koseri</i>	1	0	0	0	0	1 (0.2)
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	1	0	0	1 (0.2)
Total	362(75.4)	76 (15.8)	38 (7.9)	3 (0.6)	1 (0.2)	480

En el 100% de los casos incluidos en la base procedentes de EEUU (n=35) la carbapenemasa fue KPC, de igual forma que en aquellos procedentes de Brasil (n=23), Argentina (n=6), Israel (n=22) y Taiwan (n=60). En el caso de Turquía el 92.5% (25 aislados) fueron KPC, el 3.7% (1 aislado) IMP y otro 3.7% (1 aislado) VIM. En los casos de Grecia, el 88.9% (80 aislados) fueron KPC, el 8.9% (8 aislados) VIM, el 1.1% (1 aislado) IMP y otro 1.1% (1 aislado) NDM. El 99% (114 aislados) de los casos de Italia fueron KPC y tan solo un 1% (1 aislado) IMP. Los casos de Sudáfrica fueron OXA-48 en el 100% (3 aislados). En España, un 48.5% (48 aislados) fueron OXA-48, un 29.3% (29 aislados) VIM y un 22.2% (22 aislados) KPC (Figura 2).

Figura 2. Proporción de los tipos de carbapenemasas en los casos aportados por los distintos países a la base de datos del proyecto INCREMENT.

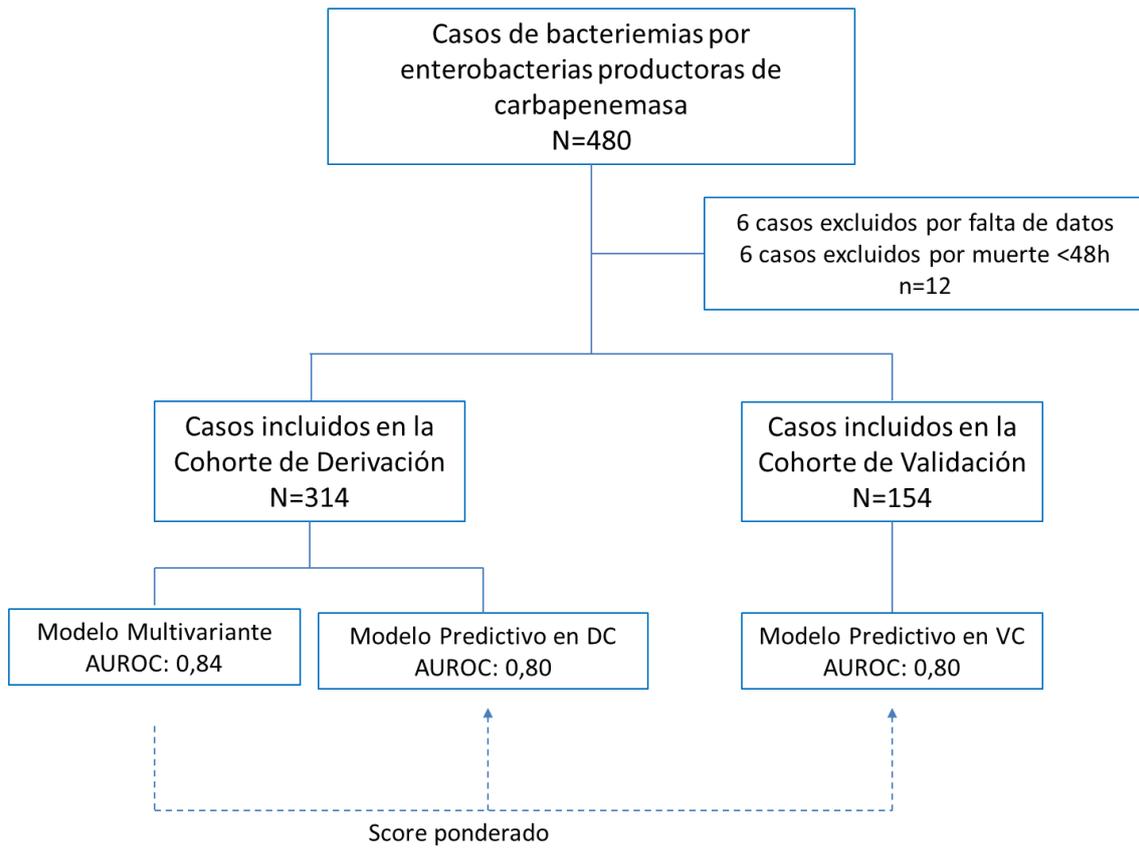


2. OBTENCIÓN Y VALIDACIÓN DEL MODELO Y SCORE PREDICTIVOS DE MORTALIDAD

De los 480 casos de bacteriemias monomicrobianas por EPC incluidas en la cohorte INCREMENT se excluyeron 6 por faltar datos necesarios y otros 6 porque fallecieron en las primeras 48 horas. Por tanto, se incluyeron 468 pacientes en los

análisis para el desarrollo y validación del modelo y score predictivos de mortalidad, los cuales se distribuyeron al azar en las cohorte de derivación (CD, 314 pacientes) y de validación (CV, 154 pacientes) (Figura 3).

Figura 3. Diagrama de flujo de pacientes con bacteriemia por enterobacterias productoras de carbapenemasa incluidos en el estudio de obtención y validación del modelo y *score* predictivos de mortalidad.



Las características basales de los pacientes se muestran en la Tabla 9; los pacientes de la cohorte de derivación y validación fueron similares en estas características, salvo para la frecuencia de hospitalización en UCI. También hubo una diferencia no significativa en la distribución de la adecuación del tratamiento antibiótico. El microorganismo más frecuente fue *K. pneumoniae*, y la carbapenemasa más frecuente fue KPC.

En este análisis, solo el 18-20% de las bacteriemias fueron de origen biliar o urinario; la mortalidad en el día 14 fue del 34.7% (IC 95%: 29.5-40.3) en la CD y del 35.7% (IC 95%: 28.2-43.8) en la CV; la mortalidad en el día 30 fue del 43.9% (IC 95%: 38.4-49.6) y del 45.5% (IC 95%: 37.4-53.7) en la CV y CD respectivamente. La mortalidad global en el día 14 en la CD para aquellos microorganismos productores de KPC fue del 34.6% (IC 95%: 28.5-41.1), del 40.4% (IC 95%: 27.0-54.9) para los productores de OXA48 y del 24.0% (IC 95%: 9.4-45.1) para los productores de VIM. Entre los 168 pacientes que fueron tratados de forma empírica con un carbapenémico, el aislado fue sensible o intermedio según puntos de corte de CLSI en 61 casos (33.7%; 1/2 de los que recibieron doripenem, 2/8 que recibieron ertapenem, 18/38 para los tratados con imipenem y 40/133 para los tratados con meropenem).

Las asociaciones univariantes entre las distintas variables y la mortalidad al día 14 se muestran en la Tabla 10.

Tabla 9. Características de los pacientes con bacteriemias por EPC incluidos en las CD y CV. Datos presentados como número (porcentaje) salvo donde se especifica.

	Cohorte de derivación (n=314)	Cohorte de validación (n=154)	p ^a
Edad en años, mediana (RIQ)	65 (54-75)	69 (54.25-77)	0.20 ^b
Sexo masculino	181(57.6)	90 (58.4)	0.87
Enterobacteriaceae			0.65
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	272 (86.6)	131 (85.1)	
Otras	42 (13.4)	23(14.9)	
Tipo de carbapenemasa			0.98
OXA	52 (16.6)	24 (15.6)	
KPC	234 (74.5)	117 (76.0)	
VIM	25 (8.0)	12 (7.8)	
Otra metalo-β-lactamasa	3 (1.0)	1 (0.6)	
Adquisición nosocomial	277 (89.6)	130 (87.2)	0.45
Origen de la bacteriemia			
Urinario o Biliar	64 (20.7)	27 (18.1)	0.51
Otros	245 ^c (79.3)	122 ^d (81.9)	
Ingreso en UCI	124 (40.4)	43 (29.1)	0.02
Índice de Charlson, mediana (RIQ)	2.5 (1-5)	2.5 (1.25-4)	0.93 ^b
Índice Pitt, mediana (RIQ)	3 (0-5)	2 (1-4)	0.76 ^b
Sepsis grave/ shock séptico	172 (54.8)	75 (48.7)	0.22
Nivel de conciencia: estuporoso	142 (45.2)	73 (48.5)	0.66

Leucemia o cáncer metastásico	51 (16.2)	22 (14.3)	0.58
Hepatopatía crónica	42 (13.4)	19 (12.3)	0.75
Enfermedad renal crónica	74 (23.6)	33 (21.4)	0.60
Tratamiento antibiótico			0.09
Tratamiento empírico y dirigido precoz adecuado	93(29.6)	52(33.8)	
Tratamiento empírico no adecuado y tratamiento dirigido precoz adecuado	103(32.8)	60(39.0)	
Tratamiento empírico y dirigido precoz no adecuados	118(37.6)	42(27.2)	
Mortalidad			
Día 14	109 (34.7)	55 (35.7)	0.83
Día 30	138 (43.9)	70 (45.5)	0.76

RIQ, rango intercuartílico.^a Valores de p calculados mediante el test χ^2 salvo cuando se especifica.

^b Test de U de Mann-Whitney. ^c Los orígenes distintos de urinario o biliar fueron: desconocido: 87; vascular: 70; neumonía: 37; intraabdominal: 32; otros 14; y piel y partes blandas 10. ^d Los orígenes distintos de urinario o biliar fueron: desconocido: 43; vascular: 33; neumonía 15; intraabdominal: 16; otros 13; piel y partes blandas 6.

Tabla 10. Análisis univariante de las variables asociadas a la mortalidad por cualquier causa al día 14 en la cohorte de derivación.

Variable	OR (IC 95%)	P
Edad >70 años	0.97 (0.59-1.56)	0.89
Sexo masculino	0.80 (0.50-1.28)	0.36
Índice de Charlson ≥ 2	3.08 (1.72-5.79)	<0.001
Enfermedad renal crónica	1.39 (0.81-2.37)	0.23
Hepatopatía crónica	1.87 (0.96-3.61)	0.06
Leucemia o cáncer metastásico	1.69 (0.91-3.10)	0.09
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.83 (0.89-4.07)	0.11
Carbapenemasa tipo OXA	1.34 (0.72- 2.45)	0.35
Origen de la bacteriemia distinto de	1.77 (1.09- 2.9)	0.02

urinario o biliar		
Adquisición nosocomial	2.11 (0.93- 5.45)	0.09
Ingreso en UCI	1.44 (0.90-2.33)	0.13
Centro de alto riesgo	3.36 (2.05-5.58)	<0.001
Período de estudio 2005-2011	1.91 (1.13-3.3)	0.02
Índice de Pitt ≥ 6	5.3 (3.05-9.40)	<0.001
Sepsis grave o shock	6.52 (3.7-12.1)	<0.001
Nivel de conciencia, estuporoso	2.77 (1.72-4.49)	<0.001
Ventilación mecánica	2.63 (1.55-4.50)	<0.001
Tratamiento definitivo precoz no adecuado	1.23 (0.71-2.2)	0.45

Los resultados del análisis de regresión logística por bloques para la asociación en la CD entre las variables de exposición y la mortalidad global al día 14 se muestran en la Tabla 11.

Los bloques y variables incluidas fueron como sigue. En el primer bloque (características basales de los pacientes) se incluyeron edad ≥ 70 años, género, índice de Charlson ≥ 2 , enfermedad renal crónica, hepatopatía crónica y cáncer metastásico o hematológico; en el segundo bloque (características microbiológicas o epidemiológicas) se incluyeron: tipo de enterobacteria, tipo de carbapenemasa, origen de la bacteriemia, adquisición nosocomial, ingreso en UCI, centro y período de estudio. En el tercer bloque se introdujo la interacción entre el centro y el período de estudio (ver Figura 4). En el cuarto bloque (gravedad de la presentación clínica) se incluyeron índice de Pitt ≥ 6 , presentación como sepsis grave o shock séptico, nivel de conciencia y necesidad de ventilación mecánica. Finalmente, en el quinto bloque (tratamiento) se incluyó el tratamiento definitivo precoz no apropiado.

Figura 4. Interacción entre centro de alto riesgo y período de estudio.

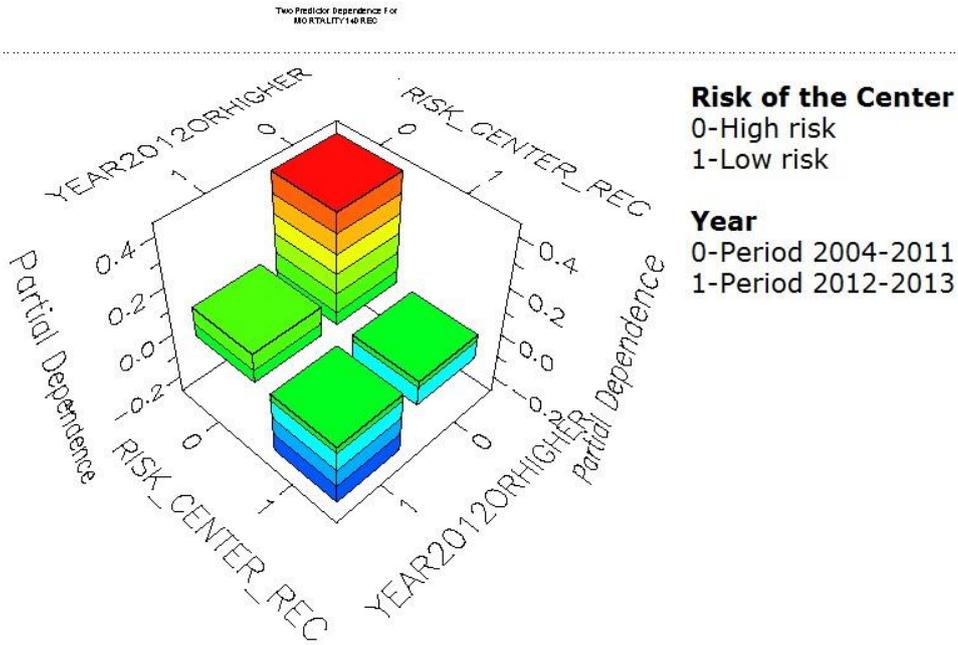


Tabla 11. Regresión logística jerárquica para mortalidad por cualquier causa al día 14 en la cohorte de derivación.

Bloque	OR (IC 95%)	P
Bloque 1^b		
Edad ≥ 70 años	1.07 (0.64-1.80)	0.80
Sexo masculino	1.23 (0.75-2.02)	0.42
Índice de Charlson ≥ 2	2.43 (1.23-4.77)	0.01
Enfermedad Renal Crónica	1.19 (0.66-2.14)	0.57
Hepatopatía crónica	1.50 (0.74-3.02)	0.26
Leucemia o cáncer metastásico	1.40 (0.72-2.75)	0.32
Bloque 2^c		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.30 (0.53-3.19)	0.56
Carbapenemasa tipo OXA	1.52 (0.67-3.44)	0.32
Origen distinto de urinario o biliar	2.38 (1.07-5.28)	0.03
Adquisición nosocomial	1.80 (0.60-5.38)	0.29

Ingreso en UCI	0.76 (0.43-1.33)	0.33
Centro de alto-riesgo	3.80 (2.15-6.72)	<0.001
Período de estudio 2005-2011	2.06 (1.09-3.89)	0.03
Bloque 3		
Interacción: centro alto-riesgo y período	2.26 (0.63-8.07)	0.21
Bloque 4^d		
Índice de Pitt ≥ 6	4.36 (1.86-10.23)	0.001
Sepsis grave o shock	6.09(2.91-12.75)	<0.001
Nivel de conciencia: estuporoso	1.02 (0.46-2.25)	0.96
Ventilación mecánica	1.55 (0.68-3.54)	0.30
Bloque 5 (final)^e		
Edad ≥ 70 años	0.83 (0.43-1.58)	0.56
Sexo masculino	1.32 (0.71-2.48)	0.38
Índice de Charlson ≥ 2	2.53 (1.09-5.91)	0.03
Enfermedad Renal crónica	1.10 (0.53-2.30)	0.80
Hepatopatía crónica	1.89 (0.78-4.60)	0.16
Leucemia o cáncer metastásico	2.03 (0.85-4.86)	0.11
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.52 (0.54-4.27)	0.43
Carbapenemasa tipo OXA	1.12 (0.39-3.24)	0.84
Origen distinto de urinario o biliar	2.52 (1.00-6.36)	0.05
Adquisición nosocomial	1.44 (0.41-5.06)	0.57
Ingreso en UCI	1.19 (0.57-2.47)	0.64
Centro de alto-riesgo	1.38 (0.40-4.76)	0.61
Período de estudio 2005-2011	1.49 (0.60-3.72)	0.39
Interacción: centro de alto-riesgo y	4.85 (1.05-22.29)	0.04

período		
Índice de Pitt ≥ 6	4.03 (1.71-9.53)	0.002
Sepsis grave o shock	5.79 (2.74-12.2)	<0.001
Nivel de conciencia, estuporoso	1.07 (0.48-2.39)	0.87
Ventilación mecánica	1.42 (0.62-3.27)	0.41
Tratamiento dirigido precoz no adecuado	1.99 (1.07-3.70)	0.03

a. En cada bloque sólo se muestran valores de odds ratio (y IC) de cada nueva variable del bloque resultante del análisis de regresión logística con todas las variables del anterior bloque también incluidas en el bloque previo excepto en el último bloque (modelo final) en el que se muestran todas las variables.

b. Los grupos de referencia de las nuevas variables dicotomizadas incluidos en el bloque 1 son: Edad <70 años; sexo femenino; índice de Charlson <2; no enfermedad renal crónica; no hepatopatía; no cáncer o cualquier cáncer distinto de leucemia o de cáncer metastásico (incluido linfoma).

c. Los grupos de referencia de las nuevas variables dicotomizadas incluidos en el bloque 2 son: Tipo de enterobacteria *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.; tipo de carbapenemasa KPC, VIM, NDM y IMP; origen de la bacteriemia urinario o biliar; adquisición comunitaria; planta de hospitalización distinta de UCI; centro de bajo-riesgo; período de estudio 2012-2013.

d Los grupos de referencia de las nuevas variables dicotomizadas incluidos en el bloque 4 son: Índice de Pitt <6; sepsis; no estuporoso; no ventilación mecánica.

e. El grupo de referencia de la nuevas variables dicotomizadas incluida en el bloque 5 es tratamiento empírico adecuado o no adecuado y tratamiento definitivo precoz

Las variables con asociación significativa en el modelo final fueron: Índice de Charlson ≥ 2 , origen de la bacteriemia distinto de urinario o biliar, interacción entre el período de estudio y el centro, índice de Pitt ≥ 6 , sepsis grave o shock y tratamiento definitivo precoz no adecuado. Este modelo final presenta un AUROC para mortalidad de 0.84 (IC 95%: 0.80-0.88). Al eliminar la variable "tratamiento definitivo precoz no adecuado", el AUROC del modelo obtenido es 0.82 (IC 95%: 0.77-0.87). El score asignado a cada una de las variables significativas en función de

su coeficiente de regresión se muestra en la Tabla 12; los valores de sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y precisión para los diferentes puntos de corte de cada *score* y la proporción de pacientes se muestran en la Tabla 13. La regla de predicción basada en los *scores* muestra un AUROC de 0.80 (IC 95%: 0.74-0.85).

Tabla 12. Puntuación asignada a cada variable en función del coeficiente de regresión obtenido de las variables seleccionadas según el análisis de regresión logística jerárquica.

Variable	Coefficientes de regresión (IC 95%)	Puntos
Sepsis grave o shock	1.76(1.01-2.50)	5
Índice de Pitt ≥ 6	1.39(0.54-2.25)	4
Índice de Charlson ≥ 2	0.93(0.09-1.78)	3
Origen distinto de urinario o biliar	0.92(0-1.85)	3
Tratamiento definitivo precoz no adecuado	0.69(0.07-1.31)	2
Puntuación total		17

Este modelo predictivo obtenido se aplicó después en la CV. La AUROC obtenida para mortalidad al día 14 por cualquier causa en la CV fue de 0.80 (IC 95%: 0.73-0.88). Los valores de S, E, VPP, VPN y precisión para los diferentes puntos de corte de cada *score* se muestran en la Tabla 12. El VPN para *scores* menores de 8 fue del 87% en la CD y en la CV; y el VPP para *scores* ≥ 14 fue del 79.1% en la CD y 81.8% en la CV. Adicionalmente, se hizo una clasificación del *score* para mortalidad en tres categorías: baja (*score* 0 a 8), intermedia (9 a 13) y alta (14 a 17), con tasas de mortalidad del 18%, 50% y 80% en ambas cohortes (CD y CV) respectivamente (Tabla 14).

En cuanto a la mortalidad en el día 30, la AUROC del modelo predictivo fue del 0.78 (IC 95%: 0.73-0.83) en la CD y 0,76 (IC 95%: 0.68-0.83) en la CV. Los VPN y VPP para *scores* ≥ 8 y ≥ 14 en la CD fueron 80.2% y 83.7%, y en la CV 76.8% y 86.4% respectivamente.

Tabla 13. Proporción de pacientes, S, E, VPP, VPN y precisión de los diferentes puntos del score, para predecir mortalidad global al día 14 en las CD y CV.

	Proporción de pacientes	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	Precisión
Cohorte de Derivación						
Score ≥ 3	92.0	99.1	11.7	37.4	96.0	42.0
Score ≥ 4	78.7	95.4	30.2	42.1	92.5	52.9
Score ≥ 5	78.0	95.4	31.2	42.4	92.8	53.5
Score ≥ 6	71.3	89.9	38.5	43.8	87.8	56.4
Score ≥ 7	60.8	85.3	52.2	48.7	87.0	63.7
Score ≥ 8	58.3	84.4	55.6	50.3	87.0	65.6
Score ≥ 9	41.4	68.8	73.2	57.7	81.5	71.7
Score ≥ 10	39.2	66.1	75.1	58.5	80.6	72.0
Score ≥ 11	33.8	59.6	80.0	61.3	78.8	72.9
Score ≥ 12	24.2	51.4	90.2	73.7	77.7	76.8
Score ≥ 13	19.7	43.1	92.7	75.8	75.4	75.5
Score ≥ 14	13.7	31.2	95.6	79.1	72.3	73.2
Score ≥ 15	8.6	21.1	98.0	85.2	70.0	71.3
Score ≥ 16	3.2	9.2	100.0	100.0	67.4	68.5
Score= 17	3.2	9.2	100.0	100.0	67.4	68.5
Cohorte de Validación						
Score ≥ 3	99.4	100.0	1.0	35.9	100.0	36.4
Score ≥ 4	77.3	94.5	32.3	43.7	91.4	54.5
Score ≥ 5	76.6	92.7	32.3	43.2	88.9	53.9
Score ≥ 6	73.4	90.9	36.4	44.2	87.8	55.8
Score ≥ 7	55.2	83.6	60.6	54.1	87.0	68.8
Score ≥ 8	55.2	83.6	60.6	54.1	87.0	68.8
Score ≥ 9	39.0	69.1	77.8	63.3	81.9	74.7
Score ≥ 10	39.0	69.1	77.8	63.3	81.9	74.7
Score ≥ 11	35.7	67.3	81.8	67.3	81.8	76.6
Score ≥ 12	27.3	56.4	88.9	73.8	78.6	77.3
Score ≥ 13	23.4	52.7	92.9	80.6	78.0	78.6
Score ≥ 14	14.3	32.7	96.0	81.8	72.0	73.4
Score ≥ 15	13.0	29.1	96.0	80.0	70.9	72.1
Score ≥ 16	3.2	5.5	98.0	60.0	65.1	64.9
Score= 17	3.2	5.5	98.0	60.0	65.1	64.9

VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo

Tabla 14. Clasificación en rangos de la mortalidad por cualquier causa el día 14 en función del *score* en las cohortes de validación y de derivación.

Score (rango)	Clasificación	Mortalidad día 14 cualquier causa (%)	
		Cohorte de Derivación	Cohorte de Validación
0 - 8	Mortalidad Baja	34/184 (18,5)	17/94 (18,1)
9 - 13	Mortalidad Intermedia	41/87 (47,1)	20/38 (52,6)
14-17	Mortalidad Alta	34/43 (79,1)	18/22 (81,8)

3. EFECTO DEL TIPO DE TRATAMIENTO

De los 480 pacientes con bacteriemias clínicamente significativas incluidos en la base de datos INCREMENT, 20 fueron excluidos por faltar datos claves en cuanto al tratamiento, 19 por haber recibido algún fármaco activo durante >2 días cuando ocurrió la bacteriemia y 4 porque fallecieron en las primeras 24 horas; por tanto, se incluyeron 437 pacientes en este análisis (Figura 5).

Estos pacientes provenían de 26 centros. El número de pacientes por centro varió desde 2 a 56; por países, el que mayor número de pacientes proporcionó fue Italia (109), seguido de España (94), Grecia (81) y Taiwan (56). El microorganismo más frecuente fue *K. pneumoniae*, y la carbapenemasa más frecuente fue KPC seguida de OXA-48 (Tabla 15).

Figura 5. Diagrama de flujo de pacientes con bacteriemia por enterobacterias productoras de carbapenemasas incluidos en el estudio.

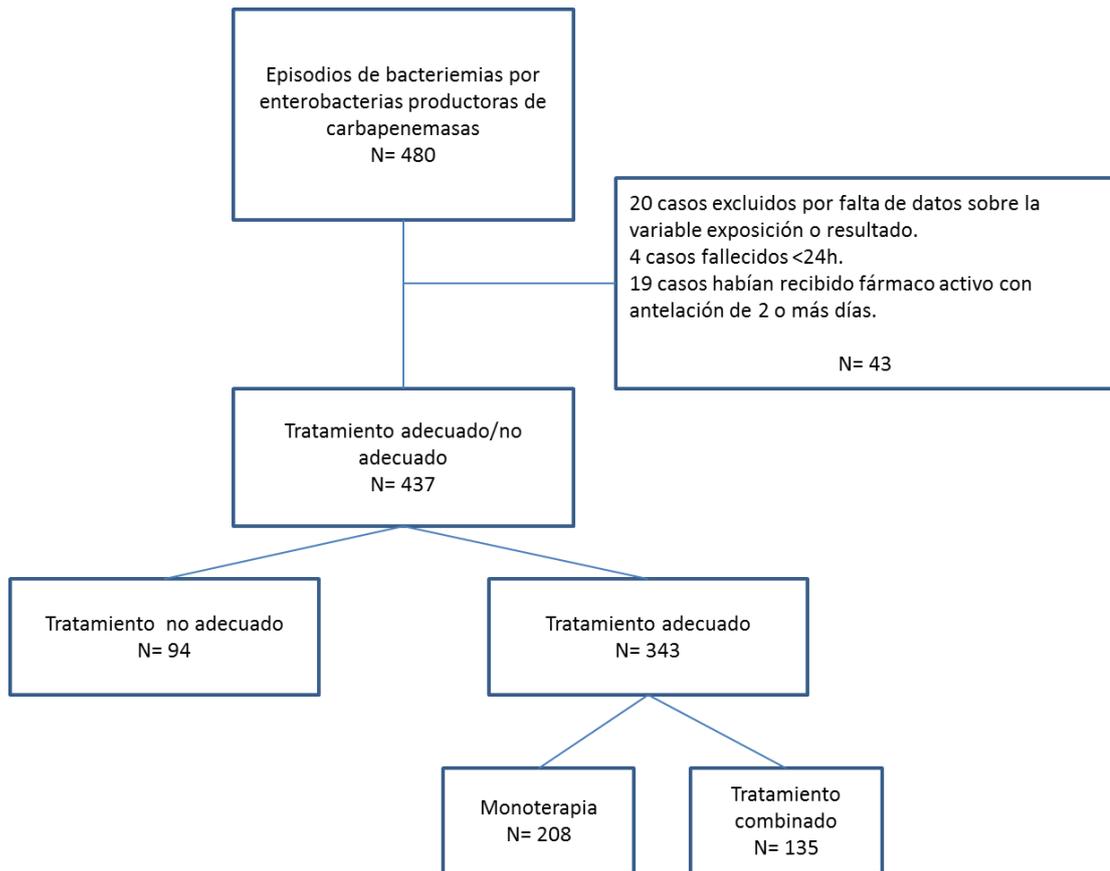


Tabla 15. Características de los pacientes con bacteriemias por enterobacterias productoras de carbapenemasas. Datos expresados en número de pacientes (porcentaje) excepto cuando se indica.

	Tratamiento adecuado (n=343)	Tratamiento no adecuado (n= 94)	P
Edad, mediana (RIQ)	66 (55.5-76)	66 (50-76.8)	0.76
Sexo masculino	197 (57.4)	58 (61.7)	0.46
Enterobacteriaceae			0.27
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	291 (84.8)	84 (89.4)	
Otra	52 ^a (15.2)	10 ^b (10.6)	
Tipo de carbapenemasa			0.64
OXA-48	57 (16.6)	12 (12.8)	
KPC	253 (73.8)	76 (80.9)	
Metalobetalactamasa ^c	33 (9.6)	6 (6.3)	
Adquisición nosocomial	298 (86.9)	87 (92.6)	0.13
Origen distinto de urinario o biliar	272 ^d (79.3)	76 ^e (80.9)	0.74
Ingreso en UCI	123 (35.9)	36 (38.3)	0.66
Índice de Charlson, mediana (RIQ)	2 (1-4)	2 (2-4)	0.74
Índice de Pitt, mediana (RIQ)	2 (1-5)	3 (0-5)	0.50
Sepsis grave/shock séptico	172 (50.1)	57 (60.6)	0.07
Nivel conciencia: no alerta	156 (45.5)	43 (45.7)	0.96
Leucemia o cáncer metastásico	52 (15.2)	13 (13.8)	0.75
Hepatopatía crónica	41 (12.0)	16 (17.0)	0.20
Insuficiencia renal crónica	80 (23.3)	18 (19.1)	0.39
Centro de alto riesgo	105 (30.6)	41 (43.6)	0.02
Período de estudio 2004-2011 (referencia: 2012-2013)	237 (69.1)	67 (71.3)	0.68
Mortalidad en el día-30	132 (38.5)	57 (60.6)	<0.001

RIQ: rango intercuartílico.

^a Otras Enterobacteriaceae fueron: *Enterobacter cloacae*, 24; *Escherichia coli*, 14; *Enterobacter aerogenes*, 10; *Citrobacter* spp. 3; *Serratia marcescens*, 1.

^b Otras Enterobacteriaceae fueron: *Enterobacter cloacae*, 4; *Escherichia coli*, 3; *Enterobacter aerogenes*, 3.

^c Todas las metalobetalactamasas fueron VIM excepto 3 aislados de pacientes con tratamiento adecuado.

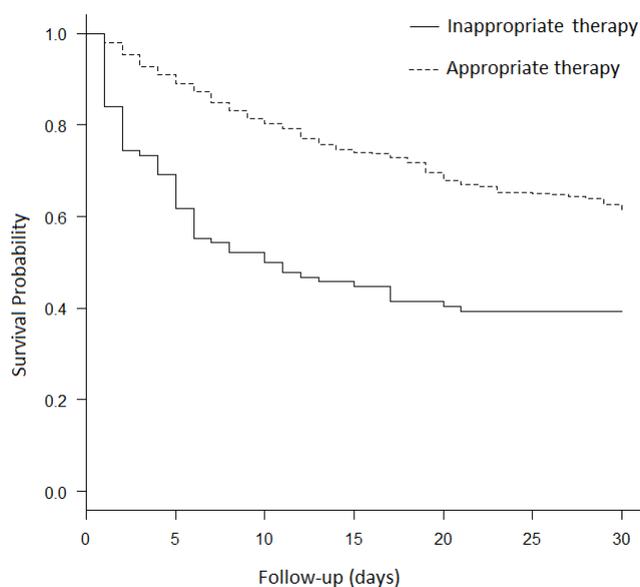
^d Los otros orígenes fueron: desconocido, 93; catéter, 67; neumonía, 34; intraabdominal, 37; piel y partes blandas, 11; otros, 10.

^e Los otros orígenes fueron: desconocido, 39; catéter, 13; neumonía, 9; intraabdominal, 7; piel y partes blandas, 5; otros, 3.

Impacto del tratamiento adecuado frente al no adecuado

El tratamiento iniciado en ≤ 5 días fue considerado adecuado en 343 casos (78.5%) y no adecuado en 94 (21.5%). Las características de los pacientes que recibieron tratamiento adecuado y no adecuado se comparan en la tabla 15; no se encontraron diferencias significativas salvo en que los pacientes que recibieron tratamiento no adecuado pertenecían con más frecuencia a centros que se habían clasificado de alto riesgo de mortalidad. Las tasas de mortalidad por cualquier causa el día 30 fueron 38.5% (132/343) y 60.6% (57/94), para tratamiento adecuado y no adecuado respectivamente ($p < 0.001$; diferencia absoluta, 22.1%; 95% IC: 11.0-33.3). Las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para ambos grupos se muestran en la Figura 6 (test de log-rank, $p < 0.001$).

Figura 6. Curvas de mortalidad de Kaplan-Meier de los pacientes que recibieron tratamiento adecuado/no adecuado.



Las asociaciones univariantes y multivariantes de las diferentes variables estudiadas con la mortalidad el día 30 se muestran en la Tabla 16; el tratamiento adecuado se asoció de forma independiente con un efecto protector (HR ajustada=0.45; 95% IC: 0.33-0.62; $p<0.001$); el tratamiento adecuado precoz (administrado en ≤ 2 días) no mostró asociación con menor mortalidad.

Tabla 16. Análisis de mortalidad mediante regresión de Cox univariante y multivariante en pacientes con bacteriemia EPC.

Variable	Análisis crudo		Análisis ajustado ^a	
	HR (IC 95%)	P	HR (IC 95%)	P
Edad (por año)	1.00 (1.00-1.01)	0.32		
Sexo masculino	0.93 (0.70-1.24)	0.62		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.29 (0.83-2.02)	0.25		
Carbapenemasa tipo OXA	1.43 (1.00- 2.05)	0.05		
Adquisición nosocomial	1.83 (1.06- 3.16)	0.03		
Origen distinto de urinario o biliar	2.12 (1.37- 3.29)	<0.001	1.72 (1.09-2.72)	0.02
Ingreso en UCI	1.55 (1.16-2.08)	0.003		
Índice de Charlson (por unidad)	1.10 (1.05-1.16)	<0.001	1.13 (1.07-1.20)	<0.001
Ventilación mecánica	1.76 (1.32-2.34)	<0.001		
Nivel de conciencia, no alerta	2.45 (1.82-3.29)	<0.001		
Enfermedad Renal Crónica	1.33 (0.97-1.84)	0.08		
Hepatopatía crónica	1.58 (1.08-2.31)	0.02		
Leucemia o cáncer metastásico	1.61 (1.12-2.31)	0.009		
Índice de Pitt (por unidad)	1.17 (1.13-1.22)	<0.001	1.09 (1.04-1.15)	<0.001
Sepsis grave/shock séptico	3.87 (2.78-5.39)	<0.001	3.11 (2.14-4.51)	<0.001
Tratamiento adecuado precoz (iniciado en ≤2 días)	0.84 (0.59-1.21)	0.35		
Tratamiento adecuado (iniciado en ≤5 días)	0.44 (0.33-0.61)	<0.001	0.45 (0.33-0.62)	<0.001
Centro de alto riesgo	2.25 (1.69-2.99)	<0.001	2.37 (1.74-3.22)	<0.001
Período de estudio 2004-2011 (referencia: 2012-2013)	1.52 (1.09-2.13)	0.01	1.43 (1.02-2.01)	0.04

^a Todos los valores del FIV de las variables incluidas en el modelo multivariante final fueron <1.4.

Se construyeron dos modelos adicionales de regresión multivariante de Cox. En el primero, la variable “tiempo hasta tratamiento adecuado” sustituyó a la variable “tratamiento adecuado / no adecuado”; se seleccionaron las mismas variables y la HR ajustada de mortalidad por día de retraso en iniciar tratamiento adecuado fue

1.024 (IC 95%: 1.01-1.04, $p < 0.001$) (Tabla 17). En el segundo modelo, la variable tratamiento se subclasificó en no adecuado, monoterapia adecuada y tratamiento combinado adecuado; los dos últimos mostraron efecto protector frente a la mortalidad, pero este efecto fue algo mayor en tratamiento combinado adecuado (HR ajustada=0.35; IC 95%: 0.23-0.52; $p < 0.001$) que en monoterapia adecuada (HR ajustada=0.52; IC 95%: 0.37-0.74; $p < 0.001$).

Tabla 17. Análisis multivariante de regresión de Cox de asociación con mortalidad considerando la variable “tiempo hasta tratamiento activo”.

Variable	Análisis ajustado	
	HR (IC 95%)	p
Tiempo hasta tratamiento activo (por día) ^a	1.024 (1.01-1.04)	<0.001
Origen distinto de urinario o biliar	1.70 (1.08-2.70)	0.02
Índice de Charlson (por unidad)	1.13 (1.07-1.20)	<0.001
Índice de Pitt (por unidad)	1.09 (1.04-1.14)	<0.001
Sepsis grave o shock séptico	3.06 (2.11-4.44)	<0.001
Centro de Alto-riesgo	2.39 (1.76-3.24)	<0.001
Período de estudio 2005-2011	1.39 (0.99-1.96)	0.06

^a HR cruda (análisis univariante): 1.03; IC 95%: 1.02-1.04, $p < 0.001$

Impacto del tratamiento combinado frente a la monoterapia

Para este análisis sólo se consideraron los 343 pacientes que habían recibido tratamiento adecuado en los primeros 5 días; de ellos, 208 (60.6%) recibieron monoterapia y 135 (39.4%) recibieron tratamiento combinado. Las características de los pacientes que recibieron uno u otro se muestran en la Tabla 18; ambos grupos fueron similares salvo por la distribución del microorganismo y del tipo de carbapenemasa. Las tasas de mortalidad por cualquier causa al día 30 fueron 85/208 (40.8%) en los pacientes tratados en monoterapia y 47/135 (34.8%) en los que recibieron tratamiento combinado ($p = 0.26$; diferencia absoluta, 6.1%; IC 95%: -4.4 - 16.5). Las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para ambos grupos se muestran en la Figura 7 ($p = 0.12$ mediante test de log-rank).

Tabla 18. Características de los pacientes con bacteriemia por enterobacterias productoras de carbapenemasas tratados con antibióticos activos en función de si recibieron monoterapia o tratamiento combinado. Datos expresados en número de pacientes (porcentaje) excepto cuando se indica.

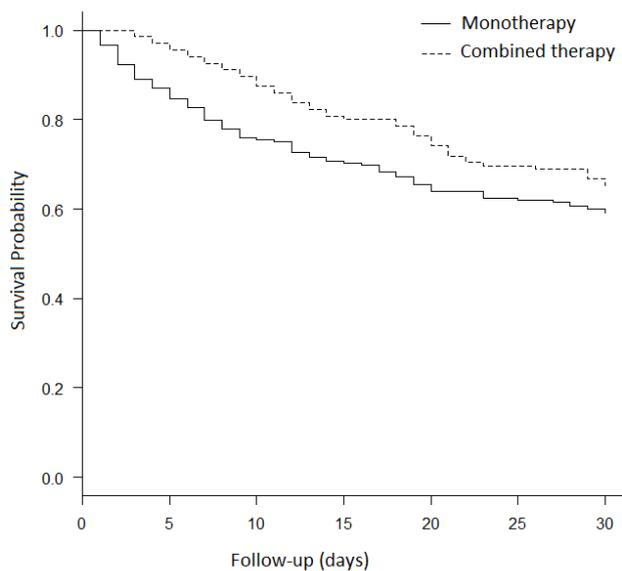
	Monoterapia (n=208)	Tratamiento combinado (n=135)	P
Edad, mediana (RIQ)	68 (55.8-76.3)	66 (55.5-75)	0.56
Sexo masculino	123(58.2)	75 (55.2)	0.59
Enterobacteriaceae			0.02
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	169 (81.2)	122 (90.4)	
Otra	39 (18.8)	13 (9.6%)	
Tipo de carbapenemasa			0.001
OXA-48	28 (13.5)	29 (21.5)	
KPC	168 (80.8)	85 (63.0)	
Metalobetalactamasas	12 (5.7)	21 (15.5)	
Adquisición nosocomial	178 (85.6)	120 (88.9)	0.37
Origen distinto de urinario o biliar	170 ^a (81.7)	102 ^b (75.6)	0.17
Ingreso en UCI	67 (32.2)	56 (41.5)	0.08
Índice de Charlson, mediana (RIQ)	3 (1-4)	2 (1-5)	0.64
Índice de Pitt, mediana (RIQ)	2 (0-5)	3 (1-5)	0.11
Sepsis grave/shock séptico	106 (51.0)	66 (48.9)	0.71
Nivel de conciencia: no alerta	99 (47.6)	57 (42.2)	0.33
Leucemia o cáncer metastásico	30 (14.4)	22 (16.3)	0.64
Hepatopatía crónica	28 (13.5)	13 (9.6)	0.29
Insuficiencia Renal Crónica	51 (24.5)	29 (21.5)	0.51
Tratamiento precoz no adecuado (≤2 días)	135 (64.9)	85 (63.0)	0.71
Mediana días hasta tratamiento activo (RIQ)	1.5 (0-3)	2 (0-4)	0.10
Centros de Alto Riesgo	70 (33.7)	35 (25.9)	0.13
Período de estudio 2004-2011 (referencia: 2012-2013)	137 (65.9)	100 (74.1)	0.11
Mortalidad en el día-30	85 (40.9)	47 (34.8)	0.26

RIQ, rango intercuartílico.

^a Los otros orígenes fueron: desconocido, 66; catéter, 52; neumonía, 19; intraabdominal, 21; piel y partes blandas, 7; otros, 5.

^b Los otros orígenes fueron: desconocido, 27; catéter, 35; neumonía, 15; intraabdominal, 16; piel y partes blandas, 4; otros, 5.

Figura 7. Curvas de mortalidad de Kaplan-Meier de los pacientes que recibieron tratamiento combinado/monoterapia.



Realizamos un análisis de regresión multivariante de Cox que incluyó el *score* del modelo predictivo INCREMENT-CPE y su interacción con el tratamiento combinado (Tabla 19); la interacción tenía efecto protector pero el tratamiento combinado per se no se asoció con la mortalidad, indicando que el tratamiento combinado mostraba un efecto protector frente a mortalidad exclusivamente en pacientes con un *score* alto. También comprobamos el efecto de otras variables frente al *score* de mortalidad; sepsis grave/shock séptico y el índice de Pitt también demostraron un efecto modificador en la influencia del tratamiento combinado, pero los modelos resultantes tenían peor ajuste que el modelo con el *score* de mortalidad (datos no mostrados).

Tabla 19. Análisis multivariante de regresión de Cox de las variables asociadas con la mortalidad consideradas en el INCREMENT-CPE score y su interacción con el Tratamiento Combinado.

Variable	Análisis crudo		Análisis ajustado	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	p
Edad (por unidad)	1.01 (1.00-1.02)	0.09		
Sexo masculino	0.96 (0.68-1.36)	0.81		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.33 (0.79-2.24)	0.29		
Carbapenemasa tipo OXA	1.47 (0.97- 2.23)	0.07		
Adquisición nosocomial	1.53 (0.84- 2.77)	0.16		
Ingreso en UCI	1.26 (0.88-1.80)	0.20		
Ventilación mecánica	1.95 (1.38-2.74)	<0.001		
Nivel de conciencia, no alerta	2.73 (1.91-3.90)	<0.001		
Insuficiencia renal crónica	1.55 (1.07-2.25)	0.02		
Hepatopatía crónica	1.38 (0.85-2.24)	0.19		
Leucemia o cancer metastásico	1.53 (1.00-2.35)	0.05		
Score de mortalidad según INCREMENT-CPE score (por unidad) ^a	1.20 (1.15-1.25)	<0.001	1.23 (1.16-1.31)	<0.001
Tratamiento combinado	0.76 (0.53-1.08)	0.13	1.63 (0.67-3.91)	0.28
Retraso hasta el primer fármaco activo (por día)	1.07 (0.99-1.14)	0.08		
Centro de Alto Riesgo	2.28 (1.61-3.22)	<0.001	2.00 (1.40-2.85)	<0.001
Período de estudio 2004-2011 (referencia: 2012-2013)	1.44 (0.97-2.13)	0.07	1.46 (0.98-2.18)	0.06
<i>Propensity score</i> ^b	1.86 (1.04-3.34)	0.04	1.20 (0.61-2.35)	0.60
Interacción INCREMENT-CPE score (por unidad) * tratamiento combinado			0.92 (0.84-0.99)	0.04

^a El INCREMENT-CPE score de mortalidad incluía: sepsis grave/shock séptico como presentación (5 puntos), Índice de Pitt ≥ 6 (4), Índice de Charlson ≥ 2 (3) y origen de la bacteriemia distinto de urinario o biliar (3). ^b Las variables usadas para calcular el *propensity score* para el tratamiento combinado fueron: centro, edad, sexo, adquisición, tipo de servicio hospitalario, Índice de Pitt, Índice de Charlson, cáncer, insuficiencia renal crónica, hepatopatía crónica, ventilación mecánica, origen de la bacteriemia, sepsis grave/shock séptico y tratamiento precoz no adecuado. El modelo

mostró un valor de p de 0.98 para el test Hosmer-Lemeshow (bondad de ajuste) y un área bajo la curva ROC de 0.85.

Para poder analizar mejor esta interacción y facilitar la aplicabilidad de los resultados, dicotomizamos el valor del *score* INCREMENT-CPE usando TreeNet en 1-7 (*score* de baja mortalidad) y 8-15 (*score* de alta mortalidad) (Figura 8). El análisis crudo estratificado en el grupo de *score* de baja mortalidad al día 30 mostró una mortalidad del 20% para monoterapia y 23.6% para tratamiento combinado ($p=0.61$ mediante test de log rank), y en el grupo de *score* de alta mortalidad, 62.1% para monoterapia y 47.6% para tratamiento combinado ($p=0.02$ mediante test de log rank) (Figura 9).

Figura 8. Análisis mediante TreeNet del riesgo de mortalidad en función del *score* de mortalidad en los grupos de tratamiento combinado y monoterapia.

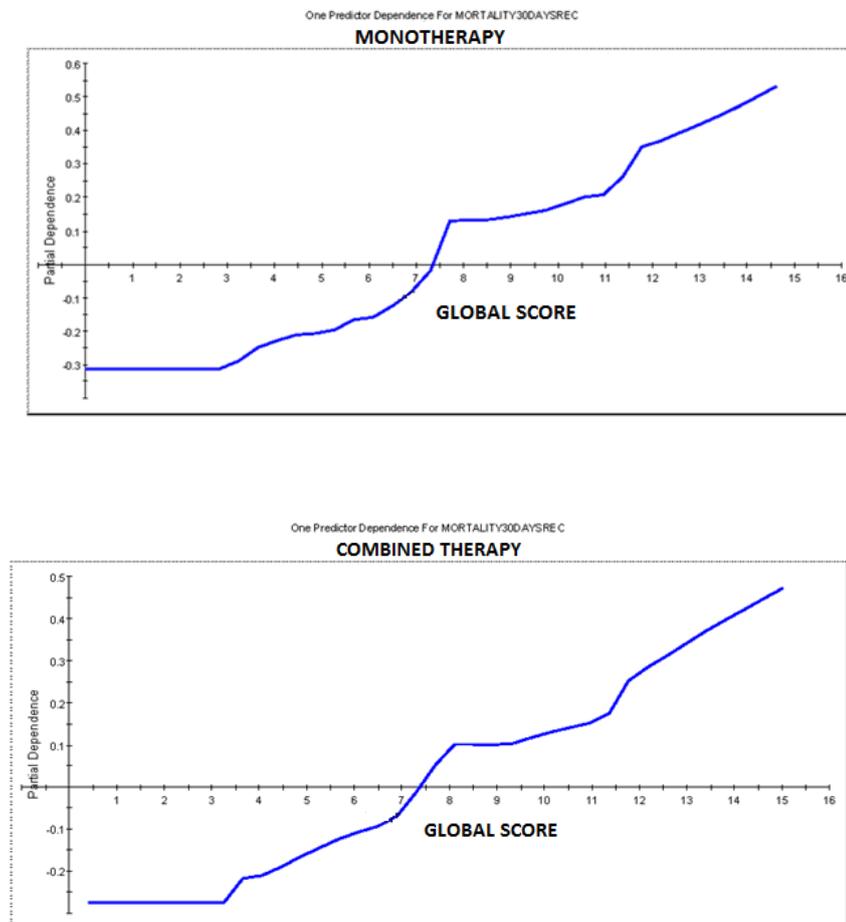
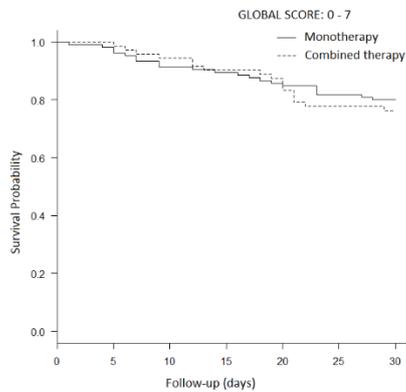
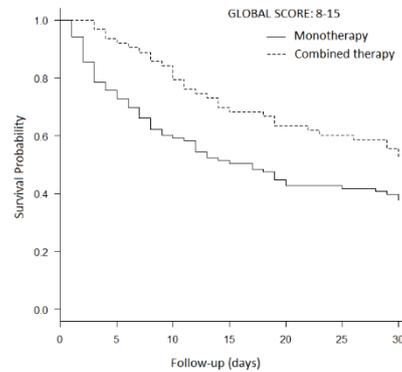


Figura 9. Curvas de Kaplan-Meier para monoterapia frente a tratamiento combinado en los grupos de paciente de bajo (0-7) y alto (8-15) *score* de mortalidad.

(a)



b)



Después realizamos análisis multivariantes en ambos estratos del *score* de mortalidad INCREMENT-CPE. Al no cumplirse el principio de proporcionalidad de los riesgos en el estrato de baja mortalidad como se muestra en las curvas de Kaplan-Meier (Figura 9), no se pudo realizar regresión de Cox y en su lugar se utilizó la regresión logística en este modelo multivariante. En el estrato de *score* bajo de mortalidad, el tratamiento combinado no se asoció de forma significativa con la mortalidad al día 30 (OR ajustada=1.21; IC 95%: 0.56-2.56; $p=0.62$; el modelo completo se muestra en la Tabla 20).

Sin embargo, en el estrato de alto *score* de mortalidad, el tratamiento combinado mostró efecto protector frente al mortalidad al día 30 de forma significativa (HR ajustada=0.56; IC 95%: 0.34-0.91; $p=0.02$; el modelo completo se muestra en la Tabla 20). La distribución de los pacientes de acuerdo a las variables incluidas en el *score* y la mortalidad se muestran en la Tabla 21.

Tabla 20. Análisis multivariante de las variables asociadas a mortalidad en función del estrato del INCREMENT-CPE score.

Bajo score de mortalidad (1-7)	OR (IC 95%)	P
Tratamiento combinado	1.21 (0.56-2.56)	0.62
Centro de alto riesgo	2.95 (1.37-6.32)	0.005
<i>Propensity score</i>	0.86 (0.20-3.38)	0.84
Alto score de mortalidad (8-15)	HR (IC 95%)	P
Tratamiento combinado	0.56 (0.34-0.91)	0.02
Centro de alto riesgo	1.94 (1.27-2.96)	0.002
Período de estudio 2004-2011 (referencia: 2012-2013)	1.61 (1.00-2.61)	0.05
<i>Propensity score</i>	1.98 (0.85-4.62)	0.11

Tabla 21. Distribución de los pacientes y mortalidad en función de las variables incluidas en el score INCREMENT-CPE y la puntuación. Los datos se muestran en nº pacientes fallecidos/nº pacientes tratados (porcentaje).

Variables	Puntos	Monoterapia	Tratamiento combinado
Sin factores de riesgo	0	0/8 (0)	0/9 (0)
Origen*	3	5/21 (23.8)	0/12 (0)
Charlson ≥ 2	3	4/23 (17.4)	6/24 (25)
Pitt ≥ 6	4	1/2 (50)	1/2 (50)
Sepsis grave/shock	5	1/3 (33.3)	0/3 (0)
Origen* + Charlson ≥ 2	6	10/44 (22.7)	9/21 (42.9)
Origen* + Pitt ≥ 6	7	0/3 (0)	-
Charlson ≥ 2 + Pitt ≥ 6	7	0/1 (0)	1/1 (100)
Origen* + Sepsis grave/shock	8	6/12 (50)	4/6 (66.7)
Charlson ≥ 2 + Sepsis grave/shock	8	14/26 (53.8)	5/15 (33.3)
Pitt ≥ 6 + Sepsis grave/shock	9	1/2 (50)	1/4 (25)
Origen* + Charlson ≥ 2 + Sepsis grave/shock	11	15/28 (53.6)	9/19 (47.4)
Origen* + Pitt ≥ 6 + Sepsis grave/shock	12	3/7 (42.8)	2/4 (50)
Charlson ≥ 2 + Pitt ≥ 6 + Sepsis grave/shock	12	8/9 (88.9)	2/5 (40)
Origen* + Charlson ≥ 2 + Pitt ≥ 6 + Sepsis grave/shock	15	17/19 (89.5)	7/10 (70)

*Se incluye cualquier origen de la bacteriemia excepto urinario o biliar.

Por último, pudimos aparear 202 pacientes (101 parejas) que habían recibido monoterapia o tratamiento combinado en base tanto a su índice de propensión como al estrato del *score* de mortalidad INCREMENT-CPE al que pertenecían; Así, se obtuvieron 55 y 46 parejas en los estratos de bajo y alto *score* respectivamente (Tabla 22). Las tasas de mortalidad para pacientes con un *score* bajo fueron 16.4% con monoterapia y 29.1% con tratamiento combinado (HR para tratamiento combinado = 1.95; IC 95%: 0.86-4.42; p=0.10), y en los pacientes con *score* alto de mortalidad, 69.6% y 50% respectivamente (HR= 0.50; IC 95%: 0.29-0.83; p=0.009).

Tabla 22. Análisis de mortalidad el día-30 de las 101 parejas de pacientes doblemente emparejados en función del *propensity score* para recibir tratamiento combinado y estrato del *score* de mortalidad. Los datos se muestran en nº fallecidos/nº tratados (porcentaje).

	Monoterapia	Tratamiento combinado	P
Score de baja mortalidad (0-7)	9/55 (16.4)	16/55 (29.1)	0.10 ^a
Score de alta mortalidad (8-15)	32/46 (69.6)	23/46 (50.0)	0.009 ^b
TOTAL	41/101 (40.6)	39/101 (38.6)	0.49 ^c

^aHR = 1.95 (IC 95%: 0.86-4.42). ^bHR = 0.50 (IC 95%: 0.29-0.83). ^cHR = 0.85 (IC 95%: 0.56-1.32).

Los fármacos más usados en monoterapia fueron colistina (74 pacientes), carbapenémicos (43) y tigeciclina (37); y en los regímenes de tratamiento combinado, tigeciclina (82), colistina (74) y aminoglucósidos (56). No se realizaron análisis específicos en función del fármaco o la combinación dada la enorme heterogeneidad observada.

Los antibióticos administrados en pacientes en monoterapia y tratamiento combinado en función del *score* de mortalidad INCREMENT-CPE y su asociación con las tasas de mortalidad se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23. Antibióticos administrados en pacientes que recibieron tratamiento adecuado en función del estrato de *score* de mortalidad INCREMENT-CPE y la mortalidad cruda. Los datos se muestran como número de pacientes fallecidos/número de pacientes tratados (porcentaje).

	Todos los pacientes (n=343)	Score baja mortalidad (n=177)	Score alta mortalidad (n=166)
Monoterapia	85/208 (40.8)	21/105 (20.0)	64/103 (62.1)
Colistina	40/74 (54.0)	12/32 (37.5)	28/42 (66.7)
Meropenem, imipenem	16/43 (37.2)	5/25 (20.0)	11/18 (61.1)
Otro betalactámico activo	3/19 (15.7)	2/17 (11.7)	1/2 (50.0)
Tigecyclina	14/37 (37.8)	0/15 (0)	14/22 (63.6)
Aminoglucósidos	11/27 (40.7)	1/9 (11.1)	10/18 (62.5)
Otros	1/8 (12.5)	1/7 (14.2)	0/1 (0)
Tratamiento combinado	47/135 (34.8)	17/72 (23.6)	30/63 (47.6)
Tigecyclina incluida*	29/82 (35.3)	10/45 (22.2)	19/37 (51.3)
Colistina incluida*	28/74 (37.8)	11/36 (30.5)	17/38 (44.7)
Aminoglucósidos incluidos*	19/56 (33.9)	4/27 (14.8)	15/29 (51.7)
Carbapenémico incluido*	14/37 (37.8)	4/19 (21.0)	10/18 (55.5)
Fosfomicina incluida*	3/9 (30.0)	1/4 (25.0)	2/5 (40)
Otros	2/2 (100)	-	2/2 (100)

*No excluyente mutuamente con otras combinaciones

DISCUSIÓN

1. ESTUDIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO

Hasta la fecha se han publicado varios estudios en los que se han evaluado pacientes con bacteriemias por enterobacterias productoras de carbapenemasas y la importancia del tratamiento antibiótico. En general todos coinciden en las características demográficas de los pacientes con este tipo de infecciones. Los orígenes de las bacteriemias son variados aunque generalmente suele predominar el origen desconocido/bacteriemia primaria, siguiendo en frecuencia los catéteres intravasculares, neumonía, tracto urinario y abdominal.

En 2009, Daikos y colaboradores publican un estudio prospectivo observacional en el que evalúan la evolución de pacientes con bacteriemias por *K. pneumoniae* productora de VIM-1 en comparación con pacientes que presentaban bacteriemia por *K. pneumoniae* no productora de carbapenemasa. Los pacientes fueron reclutados de forma consecutiva durante los años 2004 a 2006 en 3 hospitales de Grecia. El número total de pacientes incluidos fue de 162, y 67 de las cepas aisladas eran productoras de VIM. No se incluyó ningún caso de adquisición comunitaria, siendo 135 casos nosocomiales y 27 relacionados con la asistencia sanitaria. La media de edad fue 60.3 años (mediana 62.5, rango 17-97). El origen fue urinario en 22 casos, abdominal en 32, catéter intravascular en 11, piel y partes blandas en 8, neumonía en 44 y desconocido en 45. 152 pacientes presentaban alguna enfermedad de base, bien rápidamente fatal (33), bien últimamente fatal (119). La mortalidad global a los 14 días por cualquier causa fue del 15.8% en el grupo de las no productoras de carbapenemasa y del 23.9% en las productoras de VIM, encontrando las mayores tasas de mortalidad entre los pacientes con aislados que presentaron CMI a imipenem o meropenem >4 mg/L (42.9%). Es llamativo en este estudio que se incluyan pacientes con bacteriemias polimicrobianas por lo que pueden no ser comparables los grupos de tratamiento, además se incluye un elevado número de pacientes (>70%) que habían recibido un tratamiento empírico

adecuado, probablemente a expensas de aquellos con bacteriemias por microorganismos no productores de carbapenemasas.

En 2012, Qureshi y colaboradores (Qureshi 2012) publican un estudio retrospectivo de cohortes en el que evalúan la mortalidad a los 28 días en pacientes con bacteriemias por *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC entre los años 2005 y 2009 en dos hospitales de Estados Unidos. Incluyeron 41 casos de los cuales 32 (78%) fueron de adquisición nosocomial y 9 (22%) relacionados con la asistencia sanitaria. No se incluyó ningún caso de adquisición comunitaria. La mediana de edad fue 62 años (rango 25-90). Los orígenes más frecuentes fueron catéter intravascular (13 casos), neumonía (10), urinario (7) y desconocido (6). De los 41 pacientes incluidos, sólo 34 de ellos cumplieron criterios de inclusión en la cohorte de tratamiento dirigido según los criterios establecidos. La mortalidad cruda global a los 28 días fue del 39%. Cabe destacar que en el análisis se incluyeron pacientes que no habían recibido ningún fármaco activo, es decir no se comparaba exclusivamente la monoterapia con el tratamiento combinado.

También en 2012, Tumbarello y colaboradores publican un estudio multicéntrico retrospectivo de cohortes realizado en tres hospitales de Italia con pacientes que habían presentado bacteriemias por *K. pneumoniae* productoras de KPC desde enero de 2010 hasta diciembre de 2011 (Tumbarello 2012). Incluyeron 125 casos (96.8% nosocomiales y 3.2% relacionados con la asistencia sanitaria). No se incluyó ningún caso de adquisición comunitaria. La mortalidad cruda global a los 30 días fue del 41.6%. La edad media entre los que fallecieron fue de 61.5 años, y 62.9 entre los no fallecidos. No detallan el origen de las bacteriemias. El índice de Charlson medio fue de 2.

Ya en 2014, Daikos y colaboradores publican otro estudio retrospectivo multicéntrico en el que participan dos hospitales de Grecia y que incluye pacientes que hubieran presentado bacteriemia por *K. pneumoniae* productora de KPC o de VIM durante los años 2009 y 2010 (Daikos 2014). Se incluyeron 205 casos, 92.7% de adquisición nosocomial y 7.3% relacionados con la asistencia sanitaria, ninguno

de adquisición comunitaria. 163 de los aislados fueron cepas productoras de KPC o KPC y VIM, y 42 productoras exclusivamente de VIM. La edad media fue 62.7 años (mediana 66, rango 17-90). El 46.8% de los pacientes presentaban alguna enfermedad subyacente últimamente o rápidamente fatal. El origen fue neumonía en 43 casos, abdominal 29, catéter intravascular 22, urinario 19, piel y partes blandas 6, sistema nervioso central 3 y desconocido 83. La mortalidad global por cualquier causa el día 28 fue del 40%.

En nuestro trabajo se incluyen 480 bacteriemias por distintas enterobacterias productoras de carbapenemasas ocurridos entre los años 2004 y 2012, siendo hasta la fecha la serie que incluye un mayor número de casos. Además, estos casos proceden de 25 hospitales de 10 países distintos. La edad media fue 62 (mediana 66, rango intercuartílico 54-76), similar a la de otras publicaciones. En cuanto a la adquisición, el 88.5% fueron de adquisición nosocomial o en relación a la asistencia sanitaria, mientras que el 11.5% de los casos incluidos fue de adquisición comunitaria (a diferencia de las series previas en las que se excluyeron estas bacteriemias). Al igual que en la mayoría de las series publicadas, casi la mitad de los pacientes (49%) presentaban alguna enfermedad de base última o rápidamente fatal. La mediana del índice de Charlson fue 2. En cuanto al origen de la bacteriemia, los resultados también fueron similares a otros ya publicados: El origen fue desconocido en 145 casos. Entre los casos con origen identificado, el catéter intravascular fue el origen más frecuente (105 casos), seguido del urinario (73), neumonía (52), abdominal (50), biliar (21), piel y partes blandas (16), sistema nervioso central (1). La mortalidad global el día 30 fue del 44%, igualmente similar a otras series.

Una diferencia fundamental de nuestro trabajo con respecto a los estudios previos, es que se incluyen bacteriemias causadas por distintas enterobacterias, siendo *K. pneumoniae* la más frecuentemente aislada (415 casos), seguida por *E. cloacae* (30), *E. coli* (18), *E. aerogenes* (13) y otros (4). De igual forma, y también a diferencia de los estudios previamente mencionados, incluimos aislados

productores de diversas carbapenemasas siendo KPC la mayoritaria (362 casos), seguida de OXA-48 (76), VIM (38), IMP (3) y NDM (1).

2. DESARROLLO DEL MODELO PREDICTIVO

Este estudio desarrolla un *score* de predicción de mortalidad en pacientes con bacteriemias por EPC. Una de las grandes ventajas del *score* desarrollado es que las variables incluidas se miden el mismo día en el que habitualmente se dispone del informe de sensibilidad del microorganismo aislado por lo que puede resultar muy útil para el manejo clínico inicial de los pacientes. Estudios previos han encontrado distintos factores relacionados con la mortalidad en este tipo de infecciones, pero hasta donde sabemos, este es el primer estudio que desarrolla un modelo predictivo cuantificado para pacientes con bacteriemias por EPC.

Las variables incluidas en nuestro estudio en su mayoría habían mostrado relación con la mortalidad de pacientes con bacteriemias por EPC, en particular, y en bacteriemias en general, en estudios previamente publicados (Neuner 2011, Ben-David 2012, Capone 2013, Schwaber 2008, Daikos 2009, Mouloudi 2010, Pintado 2014, Patel 2008; Falagas, 2014, Retamar 2012). Así, en el estudio de Daikos y colaboradores de 2009, mediante regresión de Cox, los autores encuentran como predictores independientes de mortalidad la edad (Hazard ratio [HR] 1.03; IC 95% 1.01-1.06), enfermedad de base rápidamente fatal (HR 2.84; IC 95% 1.26-2.39) y la resistencia a los carbapenémicos (HR 2.83; IC 95% 1.08-7.41). Tras ajustar el análisis por tratamiento empírico o dirigido inapropiado, la resistencia a los carbapenémicos no alcanzaba significación estadística como predictor de mortalidad (Daikos 2009).

En el estudio de Qureshi y colaboradores de 2012, en el análisis multivariante no encuentran ningún factor de riesgo asociado de forma independiente a la mortalidad pero si encuentran asociación entre la supervivencia y el haber recibido tratamiento dirigido combinado (Odds ratio: 0.07; IC 95%: 0.009-0.71; $p= 0.02$) (Qureshi 2012).

En el trabajo de Tumbarello y colaboradores de 2012, mediante regresión logística, encuentran relación estadísticamente significativa entre la mortalidad y la presentación en forma de shock séptico (odds ratio [OR]: 7.17; IC 95% 1.63-31.03; $p= 0.008$), tratamiento empírico inadecuado (OR 4.17; IC 95% 1.61-10.76; $p= 0.003$) y un índice APACHE III alto (OR 1.04; IC 95%: 1.02-1.07; $p< 0.001$). Además encuentran como factor protector de mortalidad el haber recibido una terapia dirigida con tres fármacos (tigeciclina, colistina y meropenem) en combinación (OR 0.11; IC 95% 0.02-0.69; $p= 0.01$) (Tumbarello 2012).

En el trabajo de Daikos y colaboradores de 2014, mediante regresión de Cox encuentran como factores predictores de mortalidad la enfermedad últimamente fatal de base (HR 3.25; IC 95% 1.51-7.03; $p= 0.003$), la enfermedad rápidamente fatal de base (HR 4.20; IC 95% 2.19-8.08; $p< 0.001$) y la presentación en forma de shock séptico (HR 2.15; IC 95% 1.16-3.96; $p= 0.015$). Encuentran además como factor relacionado con la supervivencia el recibir tratamiento combinado frente a la monoterapia (HR mortalidad en monoterapia frente a combinación 2.08; IC 95% 1.23-3.51; $p=0.006$). Es llamativo que la media de edad era significativamente menor en el grupo de pacientes que habían recibido tratamiento combinado frente a aquellos que habían recibido monoterapia, 58.4 años frente a 66.5 años respectivamente, lo cual podría constituir un factor confusor de los resultados de este estudio (Daikos 2014).

A diferencia de otros estudios hemos usado la mortalidad al día 14 con el objetivo de identificar con mayor fiabilidad aquellas variables predictoras directamente relacionadas con la infección en sí; no obstante el *score* fue también predictivo para mortalidad el día 30.

Entre las variables seleccionadas se incluyó el índice de Charlson y el índice de Pitt que han sido ampliamente utilizados en estudios de bacteriemias por gramnegativos multirresistentes (y que se suele medir justo al comienzo de los síntomas) (Paterson 2004, Rodríguez-Baño 2010). El *score* también incluyó la

gravedad de la respuesta inflamatoria sistémica, variable que puede recoger factores relacionados con la virulencia del microorganismo así como factores relacionados con la respuesta inmune del paciente; el origen de la bacteriemia, cuya relación con la mortalidad es conocida; y el haber recibido o no tratamiento dirigido adecuado precoz, que mejoró de forma considerable la capacidad predictora del modelo.

El hecho de incluir una variable de manejo clínico en un modelo predictivo puede ser discutible desde el punto de vista conceptual; nosotros pensamos que al asociarse con la mortalidad (como ocurre en nuestro estudio), modifica la evolución natural de la enfermedad, por lo que tiene sentido incluirla en el modelo predictivo, dado que esta intervención médica se realiza en el mismo momento de la evaluación clínica cuando se conoce el diagnóstico de bacteriemia por EPC. De esta forma, el impacto en los predictores es medible independientemente del inicio de un tratamiento adecuado en el día del diagnóstico.

El modelo desarrollado mostró una buena capacidad predictiva tanto en la CD como en la CV y ayuda a definir los pacientes con bajo, intermedio o alto riesgo de mortalidad, y por tanto lo convertiría en una herramienta de gran utilidad a la hora de abordar el manejo inicial de la antibioterapia en pacientes con bacteriemia por EPC. Es lógico pensar que aquellos pacientes con un *score* >8 sean candidatos a recibir medidas extraordinarias en su manejo clínico; no obstante, qué medidas a tomar y qué actuaciones concretas a realizar en estos pacientes, deberían ser objeto de futuros estudios.

Ya que los ensayos clínicos controlados en pacientes con infecciones invasivas por microorganismos multirresistentes son complicados de llevar a cabo por motivos éticos, no es raro que se realicen estudios no controlados para evaluar, en estudios de fase 4, la eficacia de nuevas pautas de tratamiento, de fármacos antiguos o de nuevos fármacos; en estos casos es útil disponer de cohortes históricas como grupo control. No obstante, las comparaciones con cohortes históricas deben considerarse con precaución debido a la dificultad para controlar diversos

potenciales factores de confusión. Este *score* podría utilizarse en dichos estudios para ofrecer una estimación de la mortalidad tanto en la cohorte control como en la cohorte que evalúa la nueva pauta de tratamiento, posibilitando una mejor estimación del posible impacto pronóstico de esa pauta.

3. EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

La terapia antimicrobiana inicialmente inapropiada en infecciones graves como pueden ser las que cursan con bacteriemia se asocia, en general, con un incremento de la morbimortalidad (Retamar 2012).

Las bacteriemias por EPC frecuentemente se dan en pacientes graves; el impacto de las condiciones basales y agudas en la mortalidad es importante (Viale 2013) y puede enmascarar la influencia del tratamiento antibiótico, o hacer que este sea inapreciable. De hecho, diferentes estudios publicados previamente no han demostrado que el tratamiento activo de inicio estuviera asociado con una menor mortalidad en las bacteriemias por EPC (Zarcotou 2011, Doi 2012, Daikos 2013, Gomez-Simmonds 2016). De igual forma, Frakking et al, no encontraron efecto protector sobre la mortalidad del tratamiento empírico activo en pacientes con bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE (Frakking 2013). Por el contrario, las dos mayores cohortes de pacientes con bacteriemias por EPC publicadas hasta el momento, que incluyeron fundamentalmente casos producidos por *K. pneumoniae* productor de KPC, sí mostraron una asociación independiente entre el tratamiento empírico activo y una menor mortalidad (Tumbarello 2012; Daikos 2014). Sin embargo, los autores no especifican cuánto de precoz debe ser el tratamiento activo para causar este efecto y como se ha comentado, es posible que alguno de estos estudios presente el llamado “sesgo del superviviente” (a mayor supervivencia del paciente mayor posibilidad de recibir un tratamiento activo).

En nuestro estudio se ha considerado la administración de un tratamiento activo en el día 2 y en el día 5 y se ha demostrado que el retraso en el inicio de un tratamiento antibiótico activo más allá del día 2 (pero no antes) se asocia de forma

significativa con una mayor mortalidad. Este efecto se mantiene después de controlar no sólo por las condiciones basales, sino también por microorganismo, tipo de carbapenemasa período de estudio y centro. La interpretación clínica de este hallazgo sería que no es tan importante el tratamiento inicial como realizar un tratamiento activo en cuanto se conoce que el paciente tiene bacteriemia por EPC. A pesar de que el análisis realizado controló el efecto de todas las variables clave, en cualquier caso parece razonable intentar administrar un tratamiento activo frente a estas bacterias en pacientes que presentan una infección grave, en forma de shock séptico, y alto riesgo de infección por las mismas; en otras situaciones probablemente no sea necesario realizar una cobertura inicial máxima. En base a los resultados, parece razonable implantar acciones que permitan que los pacientes con bacteriemia por EPC reciban un tratamiento activo lo antes posible, lo que puede realizarse en el contexto de programas de bacteriemia contando con una información microbiológica rápida y consejo y seguimiento por infectólogos.

También es controvertido que el tratamiento combinado se asocie con mayor supervivencia en pacientes con bacteriemia por EPC. Mientras que la mayoría de los estudios previos encontraron efecto protector al usar dos o tres fármacos en combinación (Tumbarello 2012, Doi 2012, Daikos 2013) y sobre todo en pacientes críticos (Falcone 2016), otros no lo encontraron (Zarcotou 2011, Gomez-Simmonds 2016). En los estudios de Tumbarello et al (Tumbarello 2012) y Daikos et al (Daikos 2013), el incluir un carbapenémico en la terapia combinada se asoció con mayor supervivencia, especialmente cuando la CMI de meropenem era ≤ 8 mg/L. (Daikos 2011). En el estudio de Daikos et al, en los análisis estratificados, pareció encontrarse una asociación (no ajustada por otras variables) entre mortalidad y tratamiento combinado sólo en aquellos pacientes con situaciones basales muy graves o presentación en forma de sepsis grave/shock séptico, lo que sugería que podría haber pacientes en los que la monoterapia fuera tan eficaz como el tratamiento combinado (Daikos 2013). En otro estudio que incluyó diferentes tipos de infecciones (con y sin bacteriemia), el tratamiento combinado fue significativamente más eficaz solo en aquellos pacientes con enfermedad pulmonar grave y un alto índice APACHE III, de nuevo sólo en un análisis estratificado sin

control del efecto confusor de otras variables (Tumbarello 2015). Estos resultados nos hicieron plantear la hipótesis de que el tratamiento combinado podría ser más eficaz que la monoterapia sólo en algunos subgrupos de pacientes. La administración de un carbapenémico en todos los pacientes con infecciones invasivas por EPC no está exenta de efectos secundarios, incluido un impacto ecológico negativo (Paul 2014, Rodríguez-Baño 2015 Guía EIMC), por lo que sería de la mayor importancia poder discriminar los pacientes que posiblemente se beneficiarían de una terapia combinada con carbapenemas. Los resultados de nuestro estudio proporcionan más información a este respecto; el tratamiento combinado se asoció con mejor supervivencia sólo en aquellos pacientes con una probabilidad previa de mortalidad alta medida mediante el *score* INCREMENT-CPE; la consistencia de esta asociación se reforzó con los resultados del análisis de casos apareados en base al índice de propensión y al *score* de mortalidad. Aunque es cierto que el beneficio del tratamiento combinado en el estrato de bajo *score* de mortalidad no se puede descartar por completo dada la amplitud del intervalo de confianza del 95%, el tamaño muestral de este estrato (177 pacientes) es lo bastante grande para sugerir razonablemente que no aporta un beneficio significativo desde el punto de vista clínico; de hecho, podría incluso darse un efecto deletéreo del tratamiento combinado. Adicionalmente, no hemos encontrado que el usar una carbapenema en la combinación mejore el pronóstico y por tanto creemos que hacen falta otros estudios, sobre todo aleatorizados, para demostrar que el uso de carbapenemas es beneficioso en pacientes con bacteriemia por EPC.

Dado que el tratamiento combinado no ha demostrado asociarse con un beneficio en la supervivencia en el tratamiento de infecciones por bacterias gramnegativas en general, el beneficio de un tratamiento combinado en pacientes más graves con bacteriemia por EPC se podría deber a diferentes razones. Entre ellas, es posible que la probabilidad de no alcanzar concentraciones séricas suficientes en pacientes graves o en determinados focos de infección (neumonía) sea menor cuando se usa más de un fármaco; también podría existir un efecto sinérgico o aditivo de los antimicrobianos usados, como se ha comprobado en algunos estudios in vitro o en

modelos animales (Rodríguez-Baño 2014, Zusman 2013, Urban 2010); finalmente, podría simplemente ocurrir que la monoterapia con fármacos de “segunda línea” sea insuficiente en pacientes muy graves. En lo que respecta a qué antibiótico o combinación es mejor, no pudimos llegar a ninguna conclusión relevante dada la gran heterogeneidad de los tratamientos utilizados, circunstancia difícil de solucionar dado que los tratamientos deben elegirse en cada caso entre los escasos que presentan actividad frente a estas bacterias.

Actualmente, se está llevando a cabo un estudio de cohortes prospectivo multinacional con monitorización de la calidad de los datos recogidos para tratar de identificar las mejores alternativas terapéuticas en diferentes infecciones por EPC (EURECA project, ClinicalTrials.gov identifier NCT02709408); también está en marcha un ensayo clínico controlado y aleatorizado para comparar colistina con colistina-meropenem en el tratamiento de infecciones graves por gramnegativos resistentes a carbapenémicos (Dickstein 2016). A la espera de los resultados de estos estudios, nuestros datos sugieren que el tratamiento antibiótico activo en las bacteriemias por EPC debe iniciarse lo más pronto posible una vez diagnosticada la infección y conocida la etiología; y que el tratamiento combinado debería usarse de entrada sólo en aquellos pacientes con una alta probabilidad de mortalidad previa medida mediante el *score* INCREMENT-CPE.

4. LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO

Limitaciones

En primer lugar, aunque el estudio se diseñó para incluir casos consecutivos en los centros participantes, siempre cabe la posibilidad de que exista un sesgo de selección y que los pacientes incluidos no sean globalmente representativos de estas infecciones en todos los países. Además, al ser un trabajo retrospectivo, la evaluación de algunas variables puede no haber sido adecuada, a pesar de que se diseñó un estudio con variables sencillas de recoger e interpretar.

En cuanto al *score* predictivo, es necesario recordar que los datos se han obtenido de un estudio observacional y por tanto, la influencia de variables confusoras que no se hayan recogido no puede estimarse. Aunque por lo que sabemos ésta es la mayor cohorte de pacientes con bacteriemia por EPC hasta la fecha, la potencia estadística de nuestra cohorte de validación es limitada. Por otra parte, la validación se ha llevado a cabo en pacientes de la misma cohorte, aunque seleccionados aleatoriamente, siendo necesario intentar validar el *score* en una cohorte completamente externa. Finalmente, la utilidad clínica del *score* debe ser demostrada en estudios ad hoc.

En cuanto a los análisis del impacto del tratamiento, de nuevo debe señalarse el hecho que los datos se obtienen de un estudio observacional y el efecto de variables no medidas y confusoras residuales debe tenerse en cuenta; sin embargo, los análisis de sensibilidad realizados no han encontrado tendencias diferentes a la general en los subgrupos estudiados, lo que proporciona mayor fortaleza y consistencia a los resultados. Además, el poder estadístico en algunos estratos es limitado. No hemos podido evaluar el impacto de tratamientos específicos, dada la heterogeneidad de los regímenes utilizados. Tampoco hemos podido evaluar el impacto de determinados niveles de CMI para los distintos fármacos por el mismo motivo.

Fortalezas

Algunos puntos fuertes de este trabajo son la inclusión de pacientes de múltiples países, lo que limita el sesgo de selección; la inclusión de variables para las que todos los centros tenían experiencia para su recolección, y la evaluación de la calidad de los datos y realización de *queries* ante datos faltantes o no concordantes, lo que limita el sesgo de clasificación; el alto número de casos incluidos, que permitió la validación del *score*; el uso de definiciones estrictas de las variables, sobre todo de las relacionadas con el tratamiento, lo que permitió una adecuada clasificación de la exposición a los distintos regímenes de tratamiento, lo que es muy importante porque en este tipo de infecciones es

frecuente el cambio de tratamiento por motivos diversos durante el curso de la infección; el uso de una metodología estadística avanzada para el control de factores confusores y del sesgo de indicación, con uso de un *propensity score* y de análisis de sensibilidad; la inclusión de distintas enterobacterias, y el hecho de que, aunque las EPC productoras de KPC son mayoritarias, también se han incluido productoras de OXA-48, VIM, IMP y NDM.

CONCLUSIONES

1. En la población estudiada, *K. pneumoniae* productor de KPC fue la causa más frecuente de bacteriemia por EPC.
2. Las bacteriemias por EPC se presentan generalmente en pacientes hospitalizados con patología subyacente grave, siendo los orígenes más frecuentes el desconocido, lo catéteres vasculares y las infecciones del tracto urinario.
3. El *score* INCREMENT CPE permite identificar pacientes con bajo, medio y alto riesgo de mortalidad, con una capacidad predictora adecuada para la mortalidad y con variables fácilmente medibles.
4. El retraso en el inicio de un tratamiento antibiótico activo más allá de 2 días se asocia de manera independiente con mayor mortalidad en los pacientes con bacteriemia por EPC.
5. El tratamiento combinado se asocia con menor mortalidad en pacientes con un alto riesgo de mortalidad medido mediante el *score* INCREMENT-CPE, pero no parece hacerlo en pacientes con bajo riesgo.
6. Mientras no se disponga de datos de nuevos estudios, parece razonable utilizar el *score* INCREMENT-CPE para decidir, en función de la gravedad basal, la administración de monoterapia o tratamiento combinado en los pacientes con bacteriemias por EPC.

BIBLIOGRAFIA

1. Ambler RP. The structure of betalactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1980;289:321-31.
2. Antunes NT, Lamoureaux TL, Toth M, et al. Class D betalactamases: are they all carbapenemases? *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:2119-25.
3. Aschbacher R, Giani T, Corda D, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae during 2011-12 in the Bolzano area (Northern Italy): increasing diversity in a low-endemicity setting. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;77:354-6.
4. Bass SN, Bauer SR, Neuner EA, et al. Impact of combination antimicrobial therapy on mortality risk for critically ill patients with carbapenem-resistant bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Jul; 59(7):3748-53.
5. Bebrone C, Bogaerts P, Delbruck H, et al. GES-18, a new carbapenema-hydrolyzing GES-type betalactamase from *Pseudomonas aeruginosa* that contains Ile80 and Ser170 residues. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:396-401.
6. Ben-David D, Kordevani R, Keller N, et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:54-60.
7. Beyrouthy R, Robin E, Dabboussi F, et al. Carbapenemase and virulence factors of Enterobacteriaceae in North Lebanon between 2008 and 2012: evolution via endemic spread of OXA-48. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:2699-705.
8. Bou G, Vila J, Seral C y Castillo J. Detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in various scenarios and health settings. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(4):24-32.
9. Bratu S, Mooty M, Nichani S et al. Emergence of KPC-possesing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, New York: epidemiology and recommendations for detection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:3018-20.
10. Bulik CC, Christensen H, Li P, et al. Comparison of the activity of a human simulate, high-dose, prolonged infusion of meropenem against *Klebsiella pneumoniae* producing the KPC carbapenemase versus that against

- Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro pharmacodynamics model. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54:804-10.
11. Bulik CC, Nicolau DP. Double-carbapenem therapy for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55:3002-4.
 12. Burckhardt I, Zimmermann S. Using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry to detect carbapenem resistance within 1 to 2.5 hours. J Clin Microbiol. 2011;49:3321-4.
 13. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2010;54:933-51.
 14. Calfee D, Jenkins SG. Use of active surveillance cultures to detect asymptomatic colonization with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit patients. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008;29:966-8.
 15. Calvo J, Cantón R, Fernández Cuenca F, Mirelis B y Navarro F. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2011.
 16. Canton R, Akova M, Carmeli Y, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe: Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect. 2012;18:413-31.
 17. Capone A, Giannella M, Fortini D, et al. High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. Clin Microbiol Infect. 2013;19:E23-30.
 18. Carattoli A. Plasmids and the spread of resistance. In J Med Microbiol. 2013;303:298-304.
 19. Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, Daikos GL, Garau J, Harbarth S, et al. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: therapeutic approach and infection control. Clin Microbiol Infect. 2010;16:102-11.
 20. Carmeli Y, Armstrong J, Laud PJ, et al. Ceftazidime-avibactam or best available therapy in patients with ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* complicated urinary tract infections or complicated

- intra-abdominal infections (REPRISE): a randomised, pathogen-directed, phase 3 study. *Lancet Infect Dis*. 2016 Jun;16(6):661-73
21. Carrer A, Poirel L, Yilmaz M, Akan OA, Feriha C, Cuzon G, et al. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:1369-73.
 22. Ceccarelli G, Falcone M, Giordano A, et al. Successful ertapenem-doripenem combination treatment of bacteremic ventilator-associated pneumonia due to colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57:2900-1.
 23. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic co-morbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chron Dis*. 1987; 40:373–83.
 24. Chen YT, Lin JC, Fung CP, et al. KPC-2-encoding plasmids from *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:628-31.
 25. Chen L, Chavda KD, Melano RG, et al. Comparative genomic analysis of KPC-encoding pKpQIL-like plasmids and their distribution in New Jersey and New York hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:2871-7.
 26. Chmelnitsky I, Shklyar M, Hermesh I, Navon-Venezia S, Edgar R y Carmeli Y. Unique genes identified in the epidemic extremely drug-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* sequence type 258. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:74-83.
 27. Chouchani C, Marrackchi R, Ferchichi L, et al. VIM and IMP metalobetalactamases and other extended-spectrum betalactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from environmental samples in a Tunisian hospital. *APMIS*. 2011;119:725-32.
 28. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteen informational supplement. CLSI document M100-S19. 2009.
 29. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI M100-S22. CLSI, 2012.

30. Daikos GL, Panagiotakopoulou A, Tzelepi E, et al. Activity of imipenem against VIM-1 metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in the murine thigh infection model. Clin Microbiol Infect. 2007;13:2020-5.
31. Daikos GL, Petrikkos P, Psychogiou M, Kosmidis C, et al. Prospective observational study of the impact of VIM-1 metallo-beta-lactamase on the outcome of patients with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. Antimicrob Agent Chemother 2009; 53 (5):1868-73.
32. Daikos GL, Markogiannakis A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: (when) might we still consider treating with carbapenems? Clin Microbiol Infect. 2011;17:1135-41.
33. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouveleki LS, Anyfantis I et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. Anticomb Agent Chemother 2014;58(4):2322-28.
34. Day KM, Ali S, Mirza IA, et al. Prevalence and molecular characterization of Enterobacteriaceae producing NDM-1 carbapenemase at military hospital in Pakistan and evaluation of two chromogenic media. Diagn Microbiol Infect Dis. 2013;75:187-91.
35. Dellinger RP, Levy M, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2008. Crit Care Med. 2008 Jan;36(1):296-327.
36. Dickstein Y, Leibovici L, Yahav D, et al. Multicentre open-label randomised controlled trial to compare colistin alone with colistin plus meropenem for the treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative infections (AIDA): a study protocol. BMJ Open. 2016 Apr 20;6(4):
37. Dimou V, Dhanji H, Pike R, et al. Characterization of Enterobacteriaceae producing OXA-48-like carbapenemases in the UK. J Antimicrob Chemother. 2012;67:1660-5.
38. Doi Y, Wachino J, Arakawa Y. Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. Infect Dis Clin North Am. 2016;30(2):523-37.

39. Dortet L, Brechard L, Poirel L, Nordmann P. Impact of the isolation medium for detection carbapenemase-producing Enterobacteriaceae using an updated version of the Carba NP test. *J Med Microbiol.* 2014;63:772-6.
40. ECDC. The bacterial Challenge: time to react. European Centre for Disease Control and Prevention (eCDC). Available at: http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/0909_ter_the_bacterial_challenge_time_to_react.pdf.
41. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. EUCAST, December 2012. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Consultation/EUCAST_guidelines_detection_of_resistance_mechanisms_121222.pdf
42. Falagas ME, Gionnopoulou KP, Kokolakis GN, et al. Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. *Clin Infect Dis.* 2008;46:1069-77.
43. Falagas ME, Lourida P, Poulidakos P, Rafailidis PI, Tansarli GS. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:654-63.
44. Falcone M, Russo A, Iacovelli A, et al. Predictors of outcome in ICU patients with septic shock caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect.* 2016 May; 22(5):444-50.
45. Fraenkel-Wandel Y, Raveh-Brawer D, Wiener-Well Y, Yinnon AM, Assous MV. Mortality due to blaKPC *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(4):1083-7.
46. Galani I, Souli M, Daikos G, et al. Activity of Plazomicin (ACHN-490) against MDR clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Enterobacter* spp. From Athens, Greece. *J Chemother.* 2012;24(4):191-94.
47. Garonzik Sm, Li J, Thamlikitkul V, et al. Population pharmacokinetic of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients in from a multicentre study provide dosing suggestion for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:3284-94.
48. Giamarellou 2010. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: how to treat and for how long. *Int J Antimicrob Agent.* 2010;36(2):S50-4.

49. Giamarellou H, Galani L, Baziaka F, et al. Effectiveness of a double-carbapenem regimen for infections in humans due to carbapenemase-producing pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57:2388-90.
50. Giannella M, Trecarichi EM, De Rosa FG, et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection among rectal carriers: a prospective observational multicentre study. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Dec;20(12):1357-62.
51. Gijón D, Curiao T, Baquero F, et al. Fecal carriage of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a hidden reservoir in hospitalized and nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol*. 2012;50:1558-63.
52. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Comparison of the SUPERCARBA, CHROMagar KPC, and Brilliance CRE screening media for detection of Enterobacteriaceae with reduced susceptibility to carbapenems. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;75:214-7.
53. Girlich D, Bouihat N, Poirel L, et al. High rate of faecal carriage of extended-spectrum betalactamase and OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at a university hospital in Morocco. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:350-4.
54. Giske CG, Gezelius L, Samuelsen O, Warner M, et al. A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo-beta-lactamases and KPC in *Klebsiella pneumoniae* with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacilin. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:552-6.
55. Giske CG, Fröding I, Hasan CM, et al. Diverse sequence type of *Klebsiella pneumoniae* contribute to the dissemination of blaNDM-1 in India, Sweden and the United Kingdom. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:2735-8.
56. Giske CG, Martínez-Martínez L, Cantón R, Stefani S, Skov R, Glupczynski Y, et al. EUCAST subcommittee for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical

- and/or epidemiological importance. Version 1.0. November 2013. Available at: <http://www.eucast.org>
57. Glasner C, Albiger B, Buist G, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. Euro Surveill. 2013;18:28.
 58. Gómez-Simmonds P, Nelson B, Eiras DP, et al. Combination Regimens for Treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60:3601-7.
 59. González-Padilla M, Torre-Cisneros J, Rivera-Espinar F, et al. Gentamicin therapy for sepsis due to carbapenem-resistant and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother. 2015;70:905-13.
 60. Göttig S, Pfeifer Y, Wichelhaus TA, et al. Global spread of New Delhi metallo-beta-lactamase 1. Lancet Infect Dis. 2012;10:828-9.
 61. Griffith DC, Loutit JS, Morgan EE, et al. A phase 1 Study of the Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of the beta-lactamase inhibitor Varbobactam (RPX7009) in Healthy Adult subjects. Antimicrob Agents Chemother. 2016;15.
 62. Guerra B, Fisher J, Helmuth R. An emerging public health problem: acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animal, their environment, companion animals and wild birds. Vet Microbio. 2014;171:290-7.
 63. Gutiérrez-Gutiérrez B, Salamanca E, de Cueto M, et al. A predictive model of Mortality in patients with bloodstream infections due to Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. Mayo Clin Proc. 2016.
 64. Gutiérrez-Gutiérrez B, Sojo-Dorado J, Bravo-Ferrer J, et al. TITLE: EUropean prospective cohort study on Enterobacteriaceae showing RESistance to CARbapenems (EURECA): study protocol for a multinational observational project.
 65. Hartl R, Widhalm S, Kerschner H, et al. Temocilin and meropenem to discriminate resistance mechanisms leading to decreased carbapenem susceptibility with focus on OXA-48 in Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect. 2013;19:E230-2.

66. Hilf M, Yu Vh, Sharp J, et al: Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: outcome correlations in a prospective study of 200 patients. Am. J Med. 1989; 87:540-546.
67. Huang TD, Poirel L, Bogaerts P, Berhin C, Nordmann P, Glupczynski. Temocilin and piperacilin/tazobactam resistance by disk diffusion as antimicrobial surrogate markers for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in geographical areas with a high prevalence of OXA-48 producers. J Antimicrob Chemother. 2014;69:445-50.
68. Ito H, Arakawa Y, Ohsuka S, et al. Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene *bla*_{IMP} among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39:824-9.
69. Jain A, Hopkins KL, Turton J, et al. NDM carbapenemases in the United Kingdom: an analysis of the first 250 cases. J Antimicrob Chemother. 2014;69:1777-84.
70. Johnson AP, Woodford N. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. J Med Microbiol. 2013;62:499-513.
71. Johnson K, Boucher HW. Editorial commentary: imminent challenges: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in transplant recipients and patients with hematologic malignancy. Clin Infect Dis. 2014;58:1284-6.
72. Jones CH, Ruzin A, Tuckmann M, et al. Pyrosequencing using the single-nucleotide polymorphism protocol for rapid determination of TEM and SHV-type extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates and identification of the novel beta-lactamase genes *bla*SHV-48, *bla*SHV-105, and *bla*TEM-155. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53:977-86.
73. Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll K, et al. Manual of Clinical Microbiology. 11th edition. ISBN 978-1-55581-737-4. American Society for Microbiology 2015.
74. Kalpoe JS, Sonnenberg E, Factor SH et al. Mortality associated with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection in liver transplant recipients. Liver Transpl. 2012;18:468-74.
75. Kelesidis T, Karageorgopoulos DE, Kelesidis I, et al. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a systematic review of

- the evidence from microbiological and clinical studies. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62:895-904.
76. Kimura S, Ishii Y, Yamagushi K, et al. Evaluation of dipicolinic acid for detection of IMP- or VIM-type metalloβ-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005;53:241-4.
77. Landman D, Salvani JK, Bratu S, et al. Evaluation of techniques for detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in stool surveillance cultures. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5639-41.
78. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, et al. Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metalloβ-lactamase gene from *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:1584-90.
79. Lee J, Patel G, Huprikar S, et al. Decreased susceptibility to polymyxin B during treatment for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *J Clin Microbiol.* 2009 May; 47(5):1611-2.
80. Leung GH, Gray TJ, Cheong EY, et al. Persistence of related bla-IMP-4 metalloβ-lactamase producing Enterobacteriaceae from clinical and environmental specimens within a burns unit in Australia – a six-year retrospective study. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2013;2:35.
81. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definition Conference. *Crit Care Med.* 2003; 31:1250–6.
82. Liu, Yi-Yun, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(2):161-68.
83. López-Cerero L y Almirante B. Epidemiology of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: reservoirs and transmission mechanisms. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(4):10-16.
84. López-Cerero L, Egea P, Gracia-Ahufinger I, et al. Characterisation of the first ongoing outbreak due to KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* (ST512) in Spain. *Int J Antimicrob Agents.* 2014;44(6):538-40.
85. Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwartz D, Tarabeia J, Fefer I, Schwaber MJ, et al. Surveillance cultures and duration of carriage of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 2007;45:1551-5.

86. Martínez-Martínez L y González-López JJ. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32(4):4-9.
87. Mataseje LF, Boyd DA, Willey BM, et al. Plasmid comparison and molecular analysis of *Klebsiella pneumoniae* harbouring bla(KPC) from New York City and Toronto. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:1273-7.
88. Mataseje LF, Boyd DA, Delpont J, et al. *Serratia marcescens* harbouring SME-type class A carbapenemases un Canada and the presence of blaSME on a novel genomic island, SmarGI1-1. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:1825-9.
89. Mediavilla-Gradolph C, et al. Evaluation of an Immunochromatographic Test for Detection of OXA-48 carbapenemase. *Rev Esp Quimioter* 2016;30(1): 45-49.
90. Migliavacca R, Nucleo E, Asticcioli S, et al. Multifocal diffusion of a KPC-3 producing ST512 *K. pneumoniae* clon in Northern Italy. *New Microbiol*. 2013;36:109-10.
91. Mimoz O, Gregoire N, Poirel L, et al. Broad-spectrum betalactam antibiotics for treating experimental peritonitis in mice due to *Klebsiella pneumoniae* producing the carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:2759-60.
92. Miriagou V, Tzouveleki LS, Rossiter S, et al. Imipenem resistance in a *Salmonella* clinical strain due to plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:1297-300.
93. Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, et al. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:112-22.
94. Mouloudi E, Protonotariou E, Zagorianou A, et al. Bloodstream infections caused by metallo- β -lactamase/*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* among intensive care unit patients in Greece: risk factors for infection and impact of type of resistance on outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010; 31:1250-6.
95. Mouncey PR, Osborn TM, Power GS, et al. Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock. *N Engl J Med*. 2015;372(14):1301-11.

96. Mushtaq S, Irfan S, Sarma JB, et al. Phylogenetic diversity of *Escherichia coli* strains producing NDM-type carbapenemasas. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:2002-5.
97. Naas T, Cuzon G, Bogaerts P, et al. Evaluation of a DNA microarray (Check-MDR CT102) for a rapid detection of TEM, SHV, and CTX-M extended-spectrum betalactamasas and KPC, OXA-48, VIM, IMP, and NDM-1 carbapenemases. *J Clin Microbiol.* 2011;49:1608-13.
98. Navarro Bustos C, Gálvez San Román JL, García Sánchez MO, et al. Manejo de pacientes sépticos en Urgencias y Emergencias. Documento de consenso de las Jornadas de Primavera de SEMES-Andalucía. Sevilla. 2012.
99. Navarro-San Francisco C, Mora-Rillo M, Romero-Gómez MP, Moreno-Ramos F, Rico-Nieto A, Ruiz-Carrascoso G, Gómez-Gil R, Arribas-López JR, Mingorance J, Paño-Pardo JR. Bacteraemia due to OXA-48-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a major clinical challenge. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19(2):E72-9.
100. Neuner EA, Yeh J-Y, Hall GS, et al. Treatment and outcomes in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;69:357-62.
101. Nguyen M, Eschenauer GA, Bryan M, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: factors correlated with clinical and microbiologic outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2010;67:180-4.
102. Ni W, Cai X, Wei C, Di X, Cui J, Wang R, Liu Y. Efficacy of polymyxins in the treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections: a systematic review and meta-analysis. *Braz J Infect Dis.* 2015 Mar-Apr;19(2):170-80.
103. Nordmann P, Mariotte S, Naas T, et al. Biochemical properties of a carbapenema-hydrolyzing betalactamase from *Enterobacter cloacae* and cloning of the gene into *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37:939-46.
104. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med.* 2012;18:263-72.

105. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers in Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:821-30.
106. Nüesch-Inderbinen M, Zurkfluh K, Hächler H, et al. No evidence so far for the dissemination of the carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the community of Switzerland. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2013;4:2-23.
107. Oteo J, Hernández JM, Espasa M, et al. Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:317-21.
108. Oteo J, Saez D, Bautista V, Fernández-Romero S, Hernández-Molina JM, Pérez-Vázquez M, Aracil B, Campos J; Spanish Collaborating Group for the Antibiotic Resistance Surveillance Program. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain in 2012. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Dec;57(12):6344-7.
109. Palacios-Baena ZR, Oteo J, Conejo C, et al. Comprehensive clinical and epidemiological assessment of colonisation and infection due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Spain. *J Infect*. 2016;72(2):152-60.
110. Paño-Pardo JR, Ruiz-Carrascoso G, Navarro-San Francisco C, Gómez-Gil R, Mora-Rillo M, Romero-Gómez MP, et al. Infections caused by OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary hospital in Spain in the setting of a prolonged, hospital-wide outbreak. *J Antimicrob Chemother*. 2013;42:531-6.
111. Paño-Pardo JR, Serrano-Villar S, Ramos-Ramos JC y Pintado V. Infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: Risks factors, clinical features and prognosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32(4):41-8.
112. Paño-Pardo JR, López Quintana B, Lázaro Perona F, Ruiz Carrascoso G, Romero-Gómez MP, Loeches Yagüe B, Díaz-Pollán B, Martínez-Virto A, Mingorance J, García Rodríguez J, Arribas JR, Gómez-Gil R. Community-Onset Bloodstream and other Infections, Caused by Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae: Epidemiological, Microbiological, and Clinical Features. *Open Forum Infect Dis*. 2016 Aug 1;3(3):ofw136.

113. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008; 29:1099-106.
114. Paterson DL, Wen-Chien K, Von Gottberg A, et al. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial infections. *Ann Intern Med.* 2004; 140: 483 26-32.
115. Paul M, Carmeli Y, Durante-Mangoni E, et al. Combination therapy for carbapenem-resistant gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:2035-9.
116. Peirano G, Pillai Dr, Pitondo-Silva A, et al. The characteristics of NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* from Canada. *Dign Microbiol Infect Dis.* 2011;71:106-9.
117. Peirano G, Ahmed-Bentley J, Fuller J, Rubin JE, Pitout JDD. Travel-related carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Alberta, Canada: the first 3 years. *J Clin Microbiol.* 2014;52:1575-81.
118. Peleg AY, Franklin C, Bell JM, et al. Dissemination of the metallo-beta-lactamase gene *bla*IMP-4 among gramnegative pathogens in a clinical setting in Australia. *Clin Infect Dis.* 2005;41:1549-56.
119. Pintado V, Ruiz-Garbajosa P, Cobo J, et al. Sequential appearance of carbapenem-producing enterobacteria VIM-1, KPC-3 y OXA-48 in a tertiary hospital. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014; 32 Especial Cong 1:29.
120. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by Gram.negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:3430-6.
121. Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacilinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:15-22.
122. Poirel L, Heritier C, Nordmann P. Chromosome-encoded ambler class D-lactamase of *Shewanella oneidensis* as a progenitor of carbapenem-hydrolysing oxacilinase. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:348-51.

123. Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol.* 2007;2:501-12.
124. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:1597-606.
125. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Derepressed transfer properties leading to the efficient spread of the plasmid encoding carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:467-71.
126. Prabaker K, Lin MY, McNally M, Cherabuddi K, Ahmed S, Norris A, et al. Transfer from high-acuity long-term care facilities is associated with carriage of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a multihospital study. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012;33:1193-9.
127. Qi Y, Wei Z, Ji S, et al. ST11, the dominant clone of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in China. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:307-12.
128. Qin S, Fu Y, Zhang Q, et al. High incidence and endemic spread of NDM-1 positive Enterobacteriaceae in Henan province, China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:4275-82.
129. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile betalactamasas. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:440-58.
130. Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sordillo E, Polsku B, Adams-Haduch JM, and Doi Y. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agent Chemother* 2012;56 (4):2108-13.
131. Qureshi ZA, Syed A, Clarke LG, Doi Y, Shields RK. Epidemiology and clinical outcomes of patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteriuria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:3100-4.
132. Rai S, Das D, Niranjana DK, et al. Carriage prevalence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in stool samples: A surveillance study. *Australas Med J.* 2014;7:64-7.
133. Rasmussen BA, Bush K, Keeny D, et al. Characterization of IMI-1 betalactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:2080-6.

134. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 10(3), 444–465 (1997).
135. Retamar P, Portillo MM, López-Prieto MD, et al. Impact of inadequate empirical therapy on the mortality of patients with bloodstream infections: a propensity score-based analysis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:472-8.
136. Richter SN, Frasson I, Franchin E, et al. KPC-mediated resistance in *Klebsiella pneumoniae* in two hospitals in Padua, Italy, June 2009-December 2011: massive spreading of a KPC-3 encoding plasmid and involvement of non-intensive care units. *Gut Pathog.* 2012;4:7.
137. Rock C, Thom KA, Masnick M, et al. Frequency of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing and non-KPC-producing *Klebsiella* species contamination of healthcare workers and the environment. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2014;35:4426-9.
138. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, et al. Community-onset bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis.* 2010;50:40-8.
139. Rodríguez Baño J, De Cueto M, Retamar P, et al. Current management of bloodstream infections. *Expert Rev Anti Infect.* 2010;8(7):815-29.
140. Rodríguez-Baño J, Cisneros JM, Gudiol C, et al. Treatment of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(4):49-55.
141. Rodríguez-Baño J, Cisneros JM, Cobos-Trigueros N, et al. Diagnosis and antimicrobial treatment of invasive infections due to multidrug-resistant Enterobacteriaceae. Guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015; 33:337.e1-337.e21.
142. Rodríguez E, Bautista A, Barrero L. First report of a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolate with carbapenemase (KPC-2) in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;56:1662-3.
143. Rojo-Bezares B, Martín C, López M, et al. First detection of *bla_{IMI-2}* gene in a clinical *Escherichia coli* strain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:1146-7.

144. Satlin MJ, Calfee DP, Chen L, et al. Emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae as causes of bloodstream infections in patients with haematologic malignancies. *Leuk Lymphoma*. 2013;54:799-806.
145. Satlin MJ, Jenkins SG, Walsh TJ. The global challenge of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in transplant recipients and patients with hematologic malignancies. *Clin Infect Dis*. 2014;58:1274-83.
146. Sbrana F, Malacarne P, Viaggi B, et al. Carbapenem-sparing antibiotic regimens for infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* in intensive care unit. *Clin Infect Dis*. 2013;56:697-700.
147. Schünemann HJ, Mustafa R, Brozek J, et al. GRADE Guidelines: 16. GRADE evidence to decision frameworks for tests in clinical practice and public health. *J Clin Epidemiol*. 2016 Aug;76:89-98.
148. Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1028-33.
149. Seki LM, Pereira PS, De Souza P, et al. Molecular epidemiology of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Brazil: the predominance of sequence type 437. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70:274-7.
150. Singer M, Deutschman CS, Seymour C, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-810.
151. Souli M, Konstantinidou E, Tzepi E, et al. Efficacy of carbapenems against a metallo-beta-lactamase producing *Escherichia coli* clinical isolate in a rabbit intra-abdominal abscess model. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:611-7.
152. Sparbier K, Schubert S, Weller U, Boogen C, Kostrzewa M. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry-based functional assay for rapid detection of resistance against beta-lactam antibiotics. *J Clin Microbiol*. 2012;50:927-37.
153. Swaminathan M, Sharma S, Poliansky S, Patel G, Banach DB, Phillips M, et al. Prevalence and risks factors for acquisition of carbapenem-resistant

- Enterobacteriaceae* in the setting of endemicity. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34:809-17.
154. Swayne RL, Ludlam HA, Shet VG, Woodford N, Curran MD. Real-time TaqMan PCR for rapid detection of genes encoding five types of non-metallo-(class A and D) carbapenemasas In *Enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents.* 2011;38:35-8.
155. Tasina E, Haidich AB, Kokkali S, et al. Efficacy and safety of tigecycline for the treatment of infectious diseases: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2011;11:834-44.
156. Thomas CP, Moore LS, Etamin N, et al. Early (2008-2010) hospital outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing OXA-48 carbapenemase in the UK. *Int J Antimicrob Chemother* 2013;68:317-21.
157. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Treccarichi EM, Tumietto F, Marchese A et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis* 2012;55(7):943-50.
158. Tumbarello M, Treccarichi EM, De Rosa FG, et al. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J Antimicrob Chemother.* 2015 Jul; 70(7):2133-43.
159. Tzouvelekis LS et al. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: an Evolving Crisis of Global Dimensions *Clin Microbiol Rev.* 2012; 25;682–707.
160. Tzouvelekis LS, Miriagou V, Kotsakis SD, et al. KPC-producing, multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* sequence type 258 as a typical opportunistic pathogen. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:5144-6.
161. Urban C, Mariano N, Rahal JJ. In vitro double and triple bactericidal activities of 62 doripenem, polymixin B, and rifampin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2732-4.
162. Van Duin D, Van Delden C; the AST Infectious Diseases Community of Practice. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2013;13(4):31-41.

163. Vergara-López S, Domínguez MC, Conejo MC, Pascual A, Rodríguez-Baño J. Wastewater drainage system as an occult reservoir in a protracted clonal outbreak due to metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella oxytoca*. Clin Microbiol Infect. 2013;19:E490-8.
164. Viale P, Giannella M, Lewis R, et al. Predictors of mortality in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. Expert Rev Anti Infect Ther. 2013 Oct; 11(10):1053-63.
165. Villegas MV, Pallares CJ, Escandón-Vargas K, Hernández-Gómez C, Correa A, Álvarez C, Rosso F, Matta L, Luna C, Zurita J, Mejía-Villatoro C, Rodríguez-Noriega E, Seas C, Cortesía M, Guzmán-Suárez A, Guzmán-Blanco M. Characterization and Clinical Impact of Bloodstream Infection Caused by Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Seven Latin American Countries. PLoS One. 2016 Apr 22;11(4):e0154092.
166. von Elm E, Altman DG, Egger M et al.; STROBE Initiative. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. Lancet 2007; 370: 1453–7.
167. Vrioni G, Daniil I, Voulgari E, Ranellou K, Koumaki V, Ghirardi S, et al. Comparative evaluation of a prototype chromogenic medium (ChromID CARBA) for detecting carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in surveillance rectal swabs. J Clin Microbiol. 2012;50:1841-6.
168. Wagenlehner FM, Sobel JD, Newell P, et al. Ceftazidime-avibactam Versus Doripenem for the Treatment of Complicated Urinary Tract Infections, Including Acute Pyelonephritis: RECAPTURE, a Phase 3 Randomized Trial Program. Clin Infect Dis. 2016;63(6):754-62.
169. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother. 2006;57:373-83.
170. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. Class A carbapenemases. J Antimicrob Chemother. 2007;60:470-82.
171. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, et al. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm?. Clin Microbiol Rev. 2005; 18:306-25.
172. 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 May;11(5):355-62.
173. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, et al. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991;35:147-51.
174. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM. et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis*. 1997;24(4):584-602.
175. White House Office of the Press Secretary. Fact sheet: Obama administration releases national action plan to combat antibiotic-resistant bacteria. The White House, 2015. Available at: <https://www.whitehouse.gov/the-press-office/2015/03/27/fact-sheet-obama-administration-releases-national-action-plan-combat-ant>
176. Wiener-Well Y, Rudensky B, Yinnon AM, et al. Carriage rate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospitalized patients during a national outbreak. *J Hosp Infect*. 2010;74:344-9.
177. Williamson DA, Sidjabat He, Freeman JT, et al. Identification and molecular characterization of New Delhi metalobetalactamase-1 (NDM-1) and NDM-6-producing Enterobacteriaceae from New Zealand hospitals. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39:529-33.
178. Wiskirche DE, Nordmann P, Crandon JL, et al. In vivo efficacy of human regimens of carbapenems and comparator agents against NDM-1-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:1671-7.
179. Woodford N, Tierno PM Jr, Young K, et al. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing a new carbapenem-hydrolyzing class A betalactamase, KPC-3, in a New York Medical Center. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:4793-9.
180. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*. 2011;35:736-55.
181. Woodford N, Warner M, Pike R, et al. Evaluation of a commercial microarray to detect carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:2887-8.

182. Woodford N, Pike R, Meunier D, et al. In vitro activity of temocilin against multi-drug resistant clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp., and evaluation of high-level temocilin resistance as a diagnostic marker for OXA-48 carbapenemase. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:564-7.
183. World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance: global report on surveillance, 2014. Geneva: WHO; 2014. p. 1-256.
184. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:1151-61.
185. Yong D, Park R, Yum JH, et al. Further modification of the Hodge Test to screen AmpC beta-lactamase (CMY-1)-producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Microbiol Methods.* 2002;51:407-10.
186. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, 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;53:5046-54.
187. Yu F, Ying Q, Chen C, et al. Outbreak of pulmonary infection caused by *Klebsiella pneumoniae* isolates harbouring *bla_{IMP-4}* and *bla_{DHA-1}* in a neonatal intensive care unit in China. *J Med Microbiol.* 2012;61:984-9.
188. Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:1798-803.
189. Zhao W-H, Hu Z-Q. Epidemiology and genetics of VIM-type metallo-beta-lactamases in gram-negative bacilli. *Future Microbiol.* 2011;6:317-33.
190. Zhao W-H, Hu Z-Q. IMP-type metallo-beta-lactamases in gram-negative bacilli: distribution, phylogeny and association with integrons. *Crit Rev Microbiol.* 2011;37:214-26.
191. Zusman O, Altunin S, Koppel F, Dishon Benattar Y, Gedik H, Paul M. Polymyxin monotherapy or in combination against carbapenem-resistant bacteria:

systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother. 2016 Sep 13. pii: dkw377. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27624572.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

- **Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (INCREMENT): a retrospective cohort study**
Belén Gutiérrez-Gutiérrez*, Elena Salamanca*, Marina de Cueto, Po-Ren Hsueh, Pierluigi Viale, José Ramón Paño-Pardo, Mario Venditti, Mario Tumbarello, George Daikos, Rafael Cantón, Yohei Doi, Felipe Francisco Tuon, Ilias Karaiskos, Elena Pérez-Nadales, Mitchell J Schwaber, Özlem Kurt Azap, Maria Souli, Emmanuel Roilides, Spyros Pournaras, Murat Akova, Federico Pérez, Joaquín Bermejo, Antonio Oliver, Manel Almela, Warren Lowman, Benito Almirante, Robert A Bonomo, Yehuda Carmeli, David L Paterson, Alvaro Pascual, Jesús Rodríguez-Baño, and the REIPI/ESGBIS/INCREMENT Investigators†. *Lancet Infect Dis* 2017 Published Online April 22, 2017 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30228-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30228-1) SeeOnline/Comment [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30233-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30233-5)
- **A Predictive Model of Mortality in Patients With Bloodstream Infections due to Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae.**
Belén Gutiérrez-Gutiérrez, MD, PhD, Elena Salamanca, MD, Marina de Cueto, MD, PhD, Po-Ren Hsueh, MD, Pierluigi Viale, MD, José Ramón Paño-Pardo, MD, PhD, Mario Venditti, MD, PhD, Mario Tumbarello, MD, George Daikos, MD, PhD, Vicente Pintado, MD, Yohei Doi, MD, PhD, Felipe Francisco Tuon, MD, PhD, Ilias Karaiskos, MD, PhD, Isabel Machuca, MD, Mitchell J. Schwaber, MD, Özlem Kurt Azap, MD, PhD, Maria Souli, MD, PhD, Emmanuel Roilides, MD, PhD, Spyros Pournaras, MD, Murat Akova, MD, Federico Pérez, MD, Joaquín Bermejo, MD, Antonio Oliver, MD, PhD, Manel Almela, MD, PhD, Warren Lowman, MMed, Benito Almirante, MD, PhD, Robert A. Bonomo, MD, Yehuda Carmeli, MD, PhD, David L. Paterson, MD, PhD, Alvaro Pascual, MD, PhD, Jesús Rodríguez-Baño, MD, PhD'Correspondence information about the author MD, PhD Jesús Rodríguez-BañoEmail the author MD, PhD Jesús Rodríguez-Baño, show Investigators from the REIPI/ESGBIS/INCREMENT Group. *Mayo Clin Proc.* 2016 Oct;91(10):1362-1371. doi: 10.1016/j.mayocp.2016.06.024. PubMed PMID: 27712635.

ANEXOS

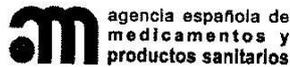
ANEXO 1

RESOLUCIÓN AEMPS

APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA HOSPITAL VIRGEN MACARENA

INSCRIPCIÓN EN CLINICALTRIALS.GOV

RESOLUCIÓN AEMPS



DEPARTAMENTO
DE MEDICAMENTOS
DE USO HUMANO

ASUNTO: RESOLUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE CLASIFICACIÓN DE ESTUDIO CLÍNICO O EPIDEMIOLÓGICO

DESTINATARIO: D^a BELEN GUTIERREZ GUTIERREZ

Vista la solicitud-propuesta formulada con fecha **23 de septiembre de 2012**, por **D^a BELEN GUTIERREZ GUTIERREZ**, para la clasificación del estudio titulado **“An Internacional Consortium for the clinical study of bloodstream infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae”**, con código **JRB-ANT-2012-01**, y cuyo promotor es **D. JESUS RODRIGUEZ BAÑO**, se emite resolución.

La Subdirección General de Medicamentos de Uso Humano de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), de conformidad con los preceptos aplicables, ⁽¹⁾ **RESUELVE** clasificar el estudio citado anteriormente como **“Estudio Posautorización con Otros Diseños diferentes al de seguimiento prospectivo”** (abreviado como EPA-OD).

Para el inicio del estudio no se requiere la autorización previa de ninguna autoridad competente (AEMPS o CCAA)⁽²⁾. No obstante, salvo que haya sido presentada para la clasificación del estudio, el promotor deberá remitir a la AEMPS ⁽³⁾ la siguiente documentación antes del inicio del estudio:

- Protocolo completo (una copia en papel y otra en formato electrónico), incluidos los anexos, y donde conste el número de pacientes que se pretenden incluir en España, desglosado por Comunidad Autónoma.
- Dictamen favorable del estudio por un CEIC acreditado en España.



DEPARTAMENTO
DE MEDICAMENTOS
DE USO HUMANO

Contra la presente resolución que pone fin a la vía administrativa podrá interponerse Recurso Potestativo de Reposición, ante la Directora de la Agencia, en el plazo de un mes a contar desde el día siguiente a aquel en que tenga lugar la notificación de la presente resolución. ⁽⁴⁾

Madrid, a 26 de septiembre de 2012

EL JEFE DE DEPARTAMENTO DE
MEDICAMENTOS DE USO HUMANO

agencia española de
medicamentos y
productos sanitarios
Departamento de Medicamentos de Uso Humano

César Hernández García

A blue ink handwritten signature is written over the printed name.

¹ Son de aplicación al presente procedimiento la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común; la Ley 12/2000, de 29 de diciembre, de medidas fiscales, administrativas y de orden social; la Ley 29/2006, de 26 de julio, de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios; el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos; el Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios" y se aprueba su estatuto; el Real Decreto 1344/2007, de 11 de octubre, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano y la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las directrices sobre estudios posautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano.

² De acuerdo con la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre

³ Los documentos se enviarán a la siguiente dirección postal: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. División de Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia. Parque Empresarial "Las Mercedes", Edificio 8. C/ Campezo, 1. 28022 Madrid.

⁴ De conformidad con lo dispuesto en los artículos 116 y 117 de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, o Recurso Contencioso-Administrativo ante el Juzgado Central de lo Contencioso-Administrativo de Madrid, en el plazo de dos meses contados desde el día siguiente al de la notificación de la presente resolución, de conformidad con la Ley 29/1998, de 13 de Julio, reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa, sin perjuicio de poder ejercitar cualquier otro recurso que se estime oportuno. En caso de interponerse recurso de reposición no podrá interponerse recurso contencioso-administrativo hasta la resolución expresa o presunta del primero.

APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA HOSPITAL VIRGEN MACARENA



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD Y BIENESTAR SOCIAL

Informe Dictamen Favorable

Proyecto Investigación Biomédica

C.P. - C.I. 1921

10 de octubre de 2012

**COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE CENTRO HOSPITAL UNIVERSITARIO
VIRGEN MACARENA**

Dr. Víctor Sánchez Margalet, Secretario del Comité de Ética de la Investigación de
Centro H.U. Virgen

Macarena

CERTIFICA

Que el Comité de Ética de la Investigación de Centro H.U. Virgen Macarena en su
reunión del día 28/09/2012, ha evaluado la propuesta del promotor referida al
estudio:

Título: An International Consortium for the clinical study of bloodstream infections
caused by multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* (INCREMENT): Multidrug-
resistant Impact of specific antimicrobials and MIC values on the outcome of
bloodstream infections due to ESBL or carbapenemase-producing
Enterobacteriaceae: an observational multinational study.

Código Interno: 1921

Promotor: Investigador

1º. Considera que

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio,
de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos. - La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este Comité de Ética de la Investigación de Centro H.U. Virgen Macarena emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

3º. Este Comité de Ética de la Investigación de Centro H.U. Virgen Macarena acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes CEI/Centros por los Investigadores:

CEIC Hospital Universitario Virgen Macarena D. Alvaro T. Pascual Hernández
(Microbiología y Parasitología)
Hospital Virgen Macarena Jesús
Rodríguez Baños
(Enfermedades Infecciosas)
Hospital Virgen Macarena

Lo que firmo en Sevilla, a 10 de octubre de 2012

Fdo:

Dr. Víctor Sánchez Margalet
Secretario del CEIC Hospital Universitario Virgen Macarena

INSCRIPCIÓN EN CLINICALTRIALS.GOV

23/11/2014 Impact of Specific Antimicrobials and MIC Values on the Outcome of Bloodstream Infections Due to Extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL) or ...

ClinicalTrials.gov

A service of the U.S. National Institutes of Health

Now Available for Public Comment: Notice of Proposed Rulemaking (NPRM) for FDAAA 801 and NIH Draft Reporting Policy for NIH-Funded Trials

Trial record 2 of 9 for: carbapenemase

[Previous Study](#) | [Return to List](#) | [Next Study](#)

Impact of Specific Antimicrobials and MIC Values on the Outcome of Bloodstream Infections Due to Extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL) or Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: an Observational Multinational Study (INCREMENT)

This study has been completed.

Sponsor:

JESUS RODRIGUEZ BAÑO

Information provided by (Responsible Party):

JESUS RODRIGUEZ BAÑO, Spanish Network for Research in Infectious Diseases

ClinicalTrials.gov Identifier:

NCT01784400

First received: December 26, 2012

Last updated: June 26, 2014

Last verified: June 2014

[History of Changes](#)

[Full Text View](#)

[Tabular View](#)

[No Study Results Posted](#)

[Disclaimer](#)

[How to Read a Study Record](#)

Purpose

Main objective: to observationally assess the efficacy of different antimicrobials in Bloodstream Infection (BSI) due to Enterobacteriaceae producing ESBLs or carbapenemases.

Specific objectives:

Bacteremic Infections due to ESBL-producing Enterobacteriaceae:

- To demonstrate that β -lactam/ β -lactam inhibitors are not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders, both as empirical and definitive therapy.
- To demonstrate that fluoroquinolones as definitive therapy are not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders.
- To demonstrate that empirical cephalosporins in monotherapy are associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders in infections other than urinary tract infections.
- To demonstrate that the association of active aminoglycosides with cephalosporins or fluoroquinolones is not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders.
- To demonstrate that combination empirical and definitive therapy is not associated with better cure rate than monotherapy after controlling for confounders.
- For tigecycline, colistin, and fosfomycin, no hypothesis. The objective is to provide adjusted estimations of their association with outcome variables in comparison with carbapenem monotherapy according to clinical situation and infection.

Bacteremic Infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae:

- To demonstrate that combination therapy is associated with worse cure rate and mortality than monotherapy after controlling for confounders.
- To show that carbapenems are associated with worse cure rate and mortality when used in infections other than urinary tract caused by isolates showing MIC ≤ 2 μ g/mL for imipenem or meropenem in comparison to those caused by isolates with higher MIC, after controlling for confounders.
- To show that colistin used at a dose ≥ 6 million IU per day is associated with improved outcomes in comparison with lower doses, after controlling for confounders.

Condition

Clinically Significant Bacteremia

Study Type: Observational

Study Design: Observational Model: Cohort

Time Perspective: Retrospective

Official Title: Impact of Specific Antimicrobials and Minimal Inhibitory Concentration(MIC) Values on the Outcome of Bloodstream Infections Due to ESBL or Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: an Observational Multinational Study

Further study details as provided by Spanish Network for Research in Infectious Diseases:

Primary Outcome Measures:

<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01784400?term=carbapenemase&rank=2>

13

2011/2014 Impact of Specific Antimicrobials and MIC Values on the Outcome of Bloodstream Infections Due to Extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL)

- Cure rate at day 14 [Time Frame: within the first 14 days after treatment started] [Designated as safety issue: No]
 - Cure: resolution of all signs and symptoms related to the infection, and antibiotic therapy is no longer necessary

Secondary Outcome Measures:

- Mortality at 72 hours [Time Frame: within the first 72 hours] [Designated as safety issue: No]
Dead: death of the patient for whatever the reason.
- Mortality at 7 days [Time Frame: within 7 days after treatment started] [Designated as safety issue: No]
Dead: death of the patient for whatever the reason.
- Mortality at 14 days [Time Frame: within 14 days after treatment started] [Designated as safety issue: No]
Dead: death of the patient for whatever the reason.
- Mortality at 30 days [Time Frame: within 30 days after treatment started] [Designated as safety issue: No]
Dead: death of the patient for whatever the reason.
- Clinical improvement at 72 hours [Time Frame: within the first 72 hours after treatment started] [Designated as safety issue: No]
Improvement: partial control or resolution of signs and symptoms related to the infection, or resolution but antibiotic therapy is still necessary
Non-improvement or deterioration: clinical situation qualified as similar or worse in comparison to that at the diagnosis of bacteraemia.
- Clinical cure at 28 days [Time Frame: within 28 days after treatment started] [Designated as safety issue: No]
Clinical Cure: resolution of all signs and symptoms related to the infection, and antibiotic therapy is no longer necessary.

Enrollment: 1344
Study Start Date: January 2013
Study Completion Date: May 2014
Primary Completion Date: December 2013 (Final data collection date for primary outcome measure)

[Show Detailed Description](#)

Eligibility

Genders Eligible for Study: Both
Accepts Healthy Volunteers: No
Sampling Method: Probability Sample

Study Population

- Episode of clinically-significant monomicrobial BSI due to ESBL or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, including community and nosocomial ones

Criteria**Inclusion Criteria:**

- Episode of clinically-significant monomicrobial BSI due to ESBL or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, including community and nosocomial ones.
 - For ESBL-producers, detection by standard phenotypic method as recommended by CLSI is enough (although PCR-based characterisation is preferred, see below).
 - For carbapenemase-producers, characterisation by at least PCR is necessary (isolates in which carbapenemase production is suspected based on antimicrobial susceptibility profile plus phenotypic tests alone is not acceptable, see below).
- Subsequent episodes in a patient caused by the same microorganism may be included if the interval between them is >3 months.
- No age limits.

Exclusion Criteria:

- Polymicrobial or non-clinically significant episodes. Episodes in which a potential contaminant (e.g., coagulase-negative staphylococci) is isolated only in one set of blood cultures and there is not a typical source of infection for that kind of organism (e.g. catheter-related) may be included.
- Unavailability of key data (such cases should be counted to analyse a potential selection bias)
- Episode occurring before January 2004.

Contacts and Locations

Choosing to participate in a study is an important personal decision. Talk with your doctor and family members or friends about deciding to join a study. To learn more about this study, you or your doctor may contact the study research staff using the Contacts provided below. For general information, see [Learn About Clinical Studies](#).

<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01704480?term=carbapenemase&rank=2>

25/11/2014 Impact of Specific Antimicrobials and MIC Values on the Outcome of Bloodstream Infections Due to Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) or...

Please refer to this study by its ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01754490

Locations**Spain**

Virgen Macarena University Hospital
Seville, Andalucía, Spain, 41009

Sponsors and Collaborators

JESUS RODRIGUEZ BAÑO

Investigators

Study Chair: JESUS RODRIGUEZ BAÑO, MD, PhD Spanish Network for Research in Infectious Diseases

More Information

No publications provided

Responsible Party: JESUS RODRIGUEZ BAÑO, GENERAL COORDINATOR, Spanish Network for Research in Infectious Diseases

ClinicalTrials.gov Identifier: [NCT01754490](#) [History of Changes](#)

Other Study ID Numbers: RESP-1MP701, JRS-ANT-2012-01

Study First Received: December 26, 2012

Last Updated: June 25, 2014

Health Authority: Spain: Spanish Agency of Medicines

Keywords provided by Spanish Network for Research in Infectious Diseases:

Bloodstream infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae, extended-spectrum β -lactamase-producers, carbapenemase-producing organisms

Additional relevant MeSH terms:

Bacteremia

Infection

Bacterial Infections

Inflammation

Pathologic Processes

Sepsis

Systemic Inflammatory Response Syndrome

Anti-infective Agents

Pharmacologic Actions

Therapeutic Uses

ClinicalTrials.gov processed this record on November 20, 2014

ANEXO 2

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

MEMORANDUM OF UNDERSTANDING PROYECTO INCREMENT

ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

An International Consortium for the clinical study of bloodstream infections caused by multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* (INCREMENT)

Impact of specific antimicrobials and MIC values on the outcome of bloodstream infections due to ESBL- or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: an observational multinational study.



©Baño

Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI)

CONFIRMED PARTICIPANTS

Promotor-investigator: Jesús Rodríguez-Baño

Steering Committee		
CENTER	Name	e-mail
Hospital Univ. V. Macarena, Seville,	Jesús Rodríguez-Baño	jesusrb@us.es

SPAIN	Alvaro Pascual	apascual@us.es
Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv, ISRAEL	Yehuda Carmeli	yehudac@tlvmc.gov.il
Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH, USA	Robert. A. Bonomo	Robert.Bonomo@va.gov
Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, AUSTRALIA	David L. Paterson	d.paterson1@uq.edu.au

CENTER	INVESTIGATORS		
	Name	e-mail	Role
Hospital Univ. V. Macarena, Seville, SPAIN	Marina de Cueto	m@marinadecueto.e.telefonica.net	PI
	Juan Gálvez	jga@us.es	I1
	María Dolores del Toro	dolotoro2001@yahoo.es	I2
	Belén Gutiérrez	belengutiguti@hotmail.com	DM
Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv, ISRAEL	Mitchell J. Schwaber	mitchells@tasmc.health.gov.il	PI
Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH, USA	Federico Pérez	perezfederico@yahoo.com	PI
Policlinico Umberto I, University of Rome La Sapienza, ITALY	Mario Venditti	mario.venditti@uniroma1.it	PI
	Marco Falcone	marcofalc@libero.it	I1
	Alessandro Russo	ale.russo1@alice.it	I2
National and Kapodistrian Universtiy of Athens, Laikon General Hospital, Athens, GREECE	L. Daikos	gdaikos@med.uoa.gr	PI
		gldaikos@gmail.com	
HYGEIA GENERAL HOSPITAL, Athens, GREECE	Helen Giamarellou	e.giamarellou@hygeia.gr	PI
Catholic University of the Sacred Heart, Rome, ITALY	Mario Tumbarello	tumbarello@rm.unicatt.it	PI
	Enrico Maria Treçarichi	enricomaria.treçarichi@rm.unicatt.it	I1
	Angela Raffaella Losito	lositoraffaella@yahoo.it	I2
Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, AUSTRALIA	David L. Paterson	d.paterson1@uq.edu.au	PI
University of Ulsan College of Medicine, Seoul, SOUTH KOREA	Yang Soo Kim	yskim@amc.seoul.kr	PI
Hospital Universitario Virgen Arrixaca de Murcia, SPAIN	Elisa Garcia Vazquez	elisag@eresmas.net	PI
	Alicia Hernandez Torres	maliht_1@hotmail.com	I1
	Joaquin Gómez Gómez	joagomez@um.es	I2
Hippokration Hospital Thessaloniki GREECE	Emmanuel Roilides	roilides@med.auth.gr	PI

University of Pittsburgh USA	Yohei Doi	yod4@pitt.edu	PI
Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Parana Curitiba, PR, BRAZIL	Felipe Francisco Tuon	flptuon@gmail.com	PI
National Taiwan University Hospital, TAIWAN	Po-Ren Hsueh	hsporen@ntu.edu.tw	PI
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau Barcelona SPAIN	Ferran Navarro	fnavarror@santpau.cat	PI
	Beatriz Mirelis		I1
	Núria Prim		I2
University of Cape Town SOUTH AFRICA	Colleen Bamford	Colleen.Bamford@uct.ac.za	PI
Hospital 12 de Octubre, Madrid, SPAIN	Rafael San Juan Garrido	rsanjuan@efd.net	PI
	Mario Fernandez Ruiz	mario_fdezruiz@yahoo.es	I1
	Julia Origüen Sabater	josabater@hotmail.com	I2
Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona SPAIN	Benito Almirante	benitoalmirante@gmail.com	PI
	Nieves Larrosa		I1
	Mireia Puig		I2
Hospital Virgen del Rocío Sevilla SPAIN	José Miguel Cisneros	jmcisnerosh@gmail.com	PI
	José Molina Bermejo		I1
	Verónica González Galán		I2
Hospital Español, Rosario, ARGENTINA	Joaquín Bermejo	jbermejo@arnet.com.ar	PI
Hospital Universitario Son Espases Palma de Mallorca SPAIN	Antonio Oliver Palomo	antonio.oliver@ssib.es	PI
	Enrique Ruiz de Gopegui	enrique.ruiz@ssib.es	I1
	Carme I. Marinescu		I2
Hospital Marqués de Valdecilla Santander SPAIN	Luis Martínez Martínez	lmartinez@humv.es	PI
	Mª del Carmen Fariñas	mirfac@humv.es	I1
	María Eliecer Cano		I2
Hospital Clinic Barcelona SPAIN	Manel Almela	malmela@clinic.ub.es	PI

Hospital La Paz Madrid SPAIN	José Ramón Paño Pardo	joserrapa@gmail.com	PI
			I1
			I2
Hospital Bellvitge, Barcelona, SPAIN	Carmen Peña Miralles	cpena@bellvitgehospital.cat	PI
	Silvia Gómez-Zorrilla		I1
	Fe Tubau Quintano		I2
Medical School, University of Thessaly Larissa, GREECE	Spyros Pournaras	pournaras@med.uth.gr	PI
	Athanasios Tsakris		I1
	Olympia Zarkotou		I2
Baskent University Faculty of Medicine, Ankara, TURKEY	Özlem Kurt Azap	ozlem.azap@gmail.com	PI
University General Hospital Attikon, Chaidari, GREECE	Maria Souli	msouli@med.uoa.gr	PI
	Anastasia Antoniadou	ananto@med.uoa.gr	I1
	Garyphalia Poulakou	gpoulakou@gmail.com	I2
C.H. Universitario A Coruña, SPAIN	German Bou	German.Bou.Arevalo@sergas.es	PI
Department of Medicine, University of Calgary, Calgary, CANADA	Johan Pitout	johann.pitout@cls.ab.ca	PI
			I1
Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, 980–8574, JAPAN	Hisakazu Yano	yanohisa@med.tohoku.ac.jp	PI
	Shiro Endo	ain@med.tohoku.ac.jp	I1
	Hajime Kanamori	kanamori@med.tohoku.ac.jp	I2
Hospital Universitario Reina Sofía,Córdoba, SPAIN	Julián Torre-Cisneros		PI
	Elena Pérez-Nadales		I1
	Clara Natera	clnrtr@gmail.com	I2
Charité - Universitätsmedizin Berlin, Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Berlin, GERMANY	Rasmus Leistner	rasmus.leistner@charite.de / rasmusleistner@googlemail.com	PI
Hospital Universitario del Mar, Barcelona, SPAIN	Juan Pablo Horcajada	jhorcaja@yahoo.es	PI
Hacettepe University School of Medicine, Ankara, TURKEY	Murat Akova	makova@hacettepe.edu.tr	PI
	Özant Helvacı		I1
	Arife Ozveren Sahin		I2
Albert-Ludwigs-University. University Hospital. Freiburg, GERMANY	Winfried Kern	winfried.kern@uniklinik-freiburg.de	PI

Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene Universitätsklinikum Köln, Cologne, GERMANY	Axel Hamprecht	axel.hamprecht@uk-koeln.de	PI
Hospital Geral de Santo António. Porto, PORTUGAL	M. Helena Ramos	directora.crmad@chporto.minsaude.pt	PI
Hospital Ramón y Cajal	Rafael Cantón	rafael.canton@salud.madrid.org	PI
	Patricia Ruiz	pruizg@salud.madrid.org	I1
	Vicente Pintado	vicente.pintado@salud.madrid.org	I2

INTRODUCTION

Spread of *Enterobacteriaceae* producing betalactamases affecting cephalosporins and/or carbapenems is a worldwide concern. Treatment of invasive infections caused by these organisms is difficult because agents showing in vitro activity are limited, and there are scarce clinical studies investigating their efficacy.

As regards extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producers, carbapenems are considered the drugs of choice for invasive/severe infections. As a consequence, carbapenems are being increasingly used, which may facilitate the spread of carbapenemase-producing organisms. Thus, seeking for alternatives to carbapenems for infections caused by ESBL-producers is a priority. The results from a recent observational study and a meta-analysis suggested that β -lactams/ β -lactamase inhibitors are a good alternative, mainly for susceptible *E. coli* causing urinary or biliary tract bloodstream infections (BSI). However, it would be important to confirm those results and evaluate whether such observation expand to other *Enterobacteriaceae* and sites of infection. Also, breakpoints for susceptibility to cephalosporins have been recently changed according to PK/PD data and some case series. It results that some ESBL producers are susceptible to cephalosporins, but clinical data supporting the use of these drugs for susceptible isolates according to new breakpoints would be needed. Similarly, more clinical data on the efficacy of fluoroquinolones for infections caused by ESBL-producers showing diminished susceptibility are also awaited. Finally, published experience with other drugs is also scarce.

As regards carbapenemase-producing organisms, similar questions arise. Depending on the carbapenemase, isolates may show low MIC to carbapenems (even in the range of susceptibility), and the efficacy of carbapenems for invasive infections caused by such isolates, alone or in combinations, is controversial. Other antibiotics are being used for the treatment of these infections. Recent data

suggests that combination therapy including a carbapenem plus one or two active drugs might be superior to monotherapy. Whether these data would apply for different carbapenemases, MICs of carbapenems, etc, is not known. Available clinical data are limited by sample size, lack of control group, appropriate control for confounders, or unicenter nature.

To further develop useful information and to improve the quality of the data would need the development of multinational studies. Organising an international consort may be the first step. We propose a specific project to answer to some of the question addressed above and also as a way to initiate the contacts between experts from different countries, from which further projects and ideas, including randomised control trials, may be developed.

OBJECTIVES

Main objective: to observationally assess the efficacy of different antimicrobials in BSI due to *Enterobacteriaceae* producing ESBLs or carbapenemases.

Secondary objectives:

1. To provide data on specific enzymes.
2. To provide data on specific MICs for each antimicrobial evaluated.
3. To organise an international consortium that can develop high quality prospective cohort studies and randomised clinical trials in the area of MDR and XDR *Enterobacteriaceae*.

Specific hypothesis and objectives

Bacteraemic infections due to ESBL-producing *Enterobacteriaceae*:

- (A1) β -lactam/ β -lactam inhibitors are as effective as the carbapenems in the empiric and definitive therapy, irrespective of the empirical therapy, severity of infection, source and species.
 - Objective: to demonstrate that β -lactam/ β -lactam inhibitors are not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders, both as empirical and definitive therapy.
- (A2) Definitive therapy with fluoroquinolones is as effective as definitive therapy with carbapenems if the organism is susceptible according to EUCAST criteria, irrespective of the

- empirical therapy, severity of infection, source and species. Objective: to demonstrate that fluoroquinolones as definitive therapy are not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders.
- (A3) Empirical therapy with active cephalosporins in monotherapy according to present EUCAST and CLSI breakpoints are associated with worse outcomes than therapy with carbapenems except for urinary tract infections.
 - Objective: to demonstrate that empirical cephalosporins in monotherapy are associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders in infections others than urinary tract infections.
 - (A4) Empirical therapy with active aminoglycosides plus cephalosporins or fluoroquinolones is as effective as carbapenem monotherapy in urinary tract infections.
 - Objective: to demonstrate that the association of active aminoglycosides with cephalosporins or fluoroquinolones is not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders.
 - (A5) Combination therapy is not superior to monotherapy ○ Objective: to demonstrate that combination empirical and definitive therapy is not associated with better cure rate than monotherapy after controlling for confounders.
 - (A6) For tigecycline, colistin, and fosfomycin, no hypothesis. The objective is to provide adjusted estimations of their association with outcome variables in comparison with carbapenem monotherapy according to clinical situation and infection.

Bacteraemic infections due to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*:

- (B1) Empirical and definitive combined therapy is associated with better outcomes than monotherapy with carbapenem, colistin or tigecycline.
 - Objective: to demonstrate that combination therapy is associated with worse cure rate and mortality than monotherapy after controlling for confounders.
- (B2) Carbapenems are more effective for infections caused by isolates with low MIC in infections other than the urinary tract in comparison to infections caused by isolates with higher MIC.
 - Objective: to show that carbapenems are associated with worse cure rate and mortality when used in infections other than urinary tract caused by isolates showing MIC <2 mcg/mL for imipenem or meropenem in comparison to those caused by isolates with higher MIC, after controlling for confounders.
- (B3) Colistin is more effective when used in optimized dose.

- Objective: to show that colistin used at a dose >6 million IU per day is associated with improved outcomes in comparison with lower dose, after controlling for confounders.

METHODS

Study design: multicentre, international retrospective cohort study.

Sites: multiple expert investigators from different countries are invited. Conditions to fulfil to participate include availability of a database with the required data or ability to retrospectively collect the data in a timely manner.

Inclusion criteria:

- Episode of clinically-significant monomicrobial BSI due to ESBL or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, including community and nosocomial ones.
 - For ESBL-producers, detection by standard phenotypic method as recommended by CLSI is enough (although PCR-based characterisation is preferred, see below).
 - For carbapenemase-producers, characterisation by at least PCR is necessary (isolates in which carbapenemase production is suspected based on antimicrobial susceptibility profile plus phenotypic tests alone is not acceptable, see below).
- Subsequent episodes in a patient caused by the same microorganism may be included if the interval between them is >3 months.
- No age limits.

Exclusion criteria:

- Polymicrobial or non-clinically significant episodes. Episodes in which a potential contaminant (e.g., coagulase-negative staphylococci) is isolated only in one set of blood cultures and there is not a typical source of infection for that kind of organism (e.g. catheter-related) can be included.
- Unavailability of key data (such cases should be counted to analyse a potential selection bias)
- Episode occurring before January 2004.

Procedure

The participant centres are asked to include:

- Previously published cases: all these cases should be included if possible. The fact that the case had been previously published should be specified in the database.
- Additionally, participants are asked to include consecutive episodes detected by reviewing their databases (clinical, infection control or microbiological records) from January 2004 to December 2012, according to the following criteria:
 - o For ESBL producers:
 - ☐ A minimum of 20 and a maximum of 50 cases should be included from each centre (the more recent ones should be selected).
 - Consecutive cases for which the enzyme is characterised at least to group level by PCR (it is, CTX-M, SHV, TEM) should be prioritised despite the date of diagnosis.
 - If not enough number of cases with PCR-characterized enzymes are available, or PCR-characterisation has not been performed, the total number of cases should be completed by including cases in which ESBL-production was identified using a standard phenotypic method.
 - o For carbapenemase-producers: only cases in which the carbapenemase was characterised by PCR should be included. All episodes up to a limit of 50 cases per centre may be included.

Overall, to avoid selection biases, consecutive cases according to previous criteria should be included.

Variables

A common online database has been designed. Access to database is restricted by individual user name and password.

Main outcome variable: Cure rate at day 14.

Secondary outcome variables: Mortality at 72 hours, 7, 14 and 30 days, clinical improvement at 72 hours, clinical cure at day 28.

Explanatory variables:

- Demographics
- Severity of chronic underlying conditions: McCabe and Charlson index
- Acute severity of underlying disease: Pitt score during the the day before BSI.

- Type of acquisition
- Source of BSI
- Severity of SIRS at presentation
- Microorganism, betalactamase, MICs
- Empirical therapy
- Definitive therapy

Definitions

- Clinically significant bacteremia: bacteremia that occurs in a patient with criteria for systemic inflammatory response (see below, sepsis criteria).
- Charlson index: punctuation is automatically calculated by filling the data in the database. Alternatively, if Pitt score had been calculated previously, it can be directly added. For all diseases, a medical diagnosis in chart is enough. Additionally, these criteria should be used. Diabetes mellitus: antidiabetic therapy (oral or insulin). Chronic pulmonary disease: any disease conducting to chronic respiratory insufficiency. Miocardial infarction: EKG evidence. Congestive heart failure: NYHA grades II or higher. Peripheral arterial disease: if causing skin ulcer or needed revascularization or amputation. Dementia: if significantly limiting independence for basic activities. Connective tissue disease: requiring immunosuppressive therapy. Liver disease: chronic hepatitis, significant liver fibrosis, or cirrhosis. Kidney disease: creatinin clearance <30 ml/min or any need for chronic dialysis. Any tumor: any malignancy requiring chemotherapy and/or radiotherapy, or palliative care.
McCabe classification (modified). This is a classification of chronic underlying condition (not the acute condition) as follows: non-fatal underlying disease (no underlying disease or related death is not expected in next 5 years), ultimately fatal underlying disease (related death is expected to occur in the next 5 years), or rapidly fatal disease (related death is expected to occur in the next year)
- Pitt score: punctuation is automatically calculated by filling the data in the database, which should be retrospectively be collected in the 24 hours prior to diagnosis of bacteremia. Alternatively, if Pitt score had been calculated previously, it can be directly added.
- SIRS severity o Sepsis: at least 2 of the following: temperature >38°C or <36°C, respiratory rate >20 or PaCO₂ <32 mmHg, heart rate >90, altered mental status, systolic blood pressure <90 mmHg, leukocyte count >12.000/mm³ or <4,000/mm³ or immature forms >10%.

- Severe sepsis: sepsis plus one of the following: hypotension (systolic BP <90 mmHg, median BP <70 mmHg, decrease in median BO >40 mmHg), organ dysfunction (respiratory, renal, liver, neurologic, hematologic), or hyperlactatemia (> 3 mmol/L)
 - Septic shock: sustained hypotension not responding to fluid support therapy and requiring inotropic support.
- Acquisition. Nosocomial if infection signs/symptoms started >48 hours after hospital admission, or in less than 48 hours after hospital discharge. Otherwise, the case should be considered community-onset.

If community-onset, the episode is considered healthcare-associated if fulfilling any of the following criteria in the previous 3 months: hospitalization in acute care center, any kind of dialysis, surgery, specialized home care, attention at day-hospital, any kind of invasive procedure (endoscopy, urinary or vascular catheterization, etc.), or long-term care facility resident.

Source: CDC definitions for nosocomial infections will be used as a reference; however, clinical and microbiological criteria as evaluated by the investigators may be used for interpretation. A source does not need to be microbiologically confirmed if enough clinical criteria are present.

- Empirical therapy: administered before susceptibility report is available.
- Definitive therapy: administered once the susceptibility report is available. If empirical therapy was continued, it is not necessary to fill the definitive therapy data.
- Outcome definitions:
 - Improvement: partial control or resolution of signs and symptoms related to the infection, or resolution but antibiotic therapy is still necessary.
 - Non-improvement or deterioration: clinical situation qualified as similar or worse in comparison to that at the diagnosis of bacteremia.
 - Cure: resolution of all signs and symptoms related to the infection, and antibiotic therapy is no longer necessary.
 - Dead: death of the patient for whatever the reason.

Quality of data

Data will be approved and signed by the responsible investigator in each center. All data will be centrally reviewed; queries will be sent for lacking data and those showing inconsistencies or discrepancies. Data will be analysed per center; those with data showing significant differences with the average will be requested for review.

Statistical Analysis Plan

- Subcohorts with patients treated with the treatment to be compared will be selected. A propensity score to receive the 2 treatment types to compare will be calculated by obtaining a non-parsimonious multivariate model by logistic regression in which the outcome variable will be the treatment type. The explanatory variables will include age, gender, center, type of ward, acquisition, Charlson index, Pitt score, severity of SIRS and source.
- After univariate analysis, multivariate analysis to investigate the adjusted association of treatment type with the main and secondary outcome variables will be performed by using logistic regression (for clinical response at day 14) and by Cox regression for mortality. If time until death is unavailable, logistic regression will be used for 30-day mortality. Logistic regression will also be used for 72-hour and 30-day clinical response. The propensity score will be added in all cases; also, Charlson score, Pitt score, severity of SIRS and source will be added. Finally, interaction between treatment type and source classified as urinary tract and others will be included.

ETHICAL ISSUES

This is a retrospective, non-intervention study. The main ethical issue to consider regards the protection of patients' data. In the database, patients' data will be disaggregated from any personal data that might identify them. The online database will not include any data that allows the identification of the patients. Access to database will only be allowed by use of an individual access password.

The project was qualified by the Spanish Medicines Agency (AEMPS; code JRBANT-2012-01; classified as post-authorization study, EPA-OD) and was approved by the Hospital Universitario Virgen Macarena Institutional Review Board (code 1921), which waived the need to obtain written informed consent due to the retrospective and observational nature of the study. Local policies should be followed at each centre.

The study has been registered in ClinicalTrials.gov.

FUNDING

The study is supported by Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI), Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III co-financed by European Development Regional Fund "A way to achieve Europe" ERDF, Spanish Network for the Research in Infectious Diseases (REIPI RD06/0008). REIPI provides funding for the online database development and server. Staff hired with

REIPI funding dedicated to different research projects included in the REIPI Research Program will be dedicated part time to the project. There is no other funding.

PUBLICATION, AUTHORSHIP, AND DATABASE RIGHTS/SECURITY POLICY

- Consortium. Each centre or research group may include up to 3 investigators in the consortium. One of them will be designated as principal investigator from their centre.
- The Editorial Committee is formed by coordinators and the principal investigator of each participating centre.
- The Steering Committee is composed by the Jesús Rodríguez-Baño, Alvaro Pascual (study coordinators), Yehuda Carmeli, David L. Paterson, and Robert Bonomo.
- Publication policy. The Editorial Committee will decide the publication and authorship policy, after Steering Committee proposals. Any member of the Editorial Committee may propose additional analysis and publications beyond those included in this document.
- Authorship. To be author, criteria for authorship as established by medical journals must be fulfilled. In general terms, manuscripts would be authored by writer, coordinators, and one author per centre according to the number of cases included in the article whenever fulfilling the authorship criteria; if a limited number of authors is allowed, all other authors would be included in a list in the Acknowledgement section as “Other authors”. All other participants in the study would be listed in the Acknowledgement section as “Other participants”. Alternatively, group authorship may be considered.

The database is propriety of REIPI and will be hosted by REIPI in a server accomplishing the guarantee for data protection according to Spanish legislation. Investigators from the consortium will have access through individual password to all data from their institution. The Steering Committee must approve any initiative to report partial results from specific institutions, to avoid duplicity in publications. Access to the whole database will be provided after specific requests for defined analysis and publications if approved by the Steering Committee.

MEMORANDUM OF UNDERSTANDING PROYECTO INCREMENT

An International Consortium for the clinical study of bloodstream infections caused by multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* (INCREMENT)

Memorandum of understanding

December 2012

The INCREMENT Project has as objectives:

Main objective: to observationally assess the efficacy of different antimicrobials in BSI due to *Enterobacteriaceae* producing ESBLs or carbapenemases.

Secondary objectives:

1. To provide data on specific enzymes.
2. To provide data on specific MICs for each antimicrobial evaluated.
3. To organise an international consortium that can develop high quality prospective cohort studies and randomised clinical trials in the area of MDR and XDR *Enterobacteriaceae*.

The guiding principles behind the INCREMENT should be as follows:

1. The privacy, anonymity and confidentiality of research participants are protected. The main ethical issue to consider regards the protection of patients' data. In the online database that has been designed to include all episodes that satisfy inclusion criteria, patients' data will be disaggregated from any personal data that might identify them. Access to database will only be allowed by use of an individual access password.
2. INCREMENT Project will have the following organization: A Steering Committee, Study Coordinators (they will be part of the Steering Committee), a Data manager and the Participating centres.
3. The Steering Committee will address the main issues about the Study, such as objectives, procedures, and the statistical analysis plan.
4. The Study Coordinators of the Steering Committee will coordinate all participating centres. All relevant information relative to INCREMENT Project will be communicated to the investigators through the Study Coordinators. In the same way, the Study Coordinators will deal with the

proposals, observations, clarifications or problematic about the Study that each participating centre could formulate, or will raise to Steering Committee decision if necessary.

5. The Data Manager will coordinate with the participating centres the inclusion of the cases in the online database, as well of solving any question that may arise.
6. Each centre or research group may include up to 3 investigators in the consortium. One of them will be designated as principal investigator from their centre. The PI can change over time, as required by the centre. The PI for each participating centre will ensure that the study is conducted there in accordance with the protocols agreed by INCREMENT. They will also ensure the collection and inclusion of the data in the database within the deadlines set by the INCREMENT Project.
7. Contributing PIs will have access to all clinical or biological data collected from their centre.
8. The database is property of Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI), funded by the Spanish Government, and will be hosted by REIPI in a server accomplishing the guarantee for data protection according to Spanish legislation. Investigators from the consortium will have access through individual password to all data from their institution.
9. Although the sovereignty of all clinical data contributed to the INCREMENT Project will remain with the contributing centre, the Steering Committee must approve any initiative to report partial results from specific institutions, to avoid duplicity in publications. Access to the whole database will be provided after specific requests for defined analysis and publications if approved by the Steering Committee.
10. An Editorial Committee will be formed by coordinators and the principal investigator of each participating centre. The Editorial Committee will decide the publication and authorship policy, after coordinators proposals. Any member of the Editorial Committee may propose additional analysis and publications beyond those included in this document.
11. Authorship. To be author, criteria for authorship as established by medical journals must be fulfilled. In general terms, manuscripts would be authored by writer, coordinators, and one author per centre according to the number of cases included in the article whenever fulfilling the authorship criteria; if a limited number of authors is allowed, all other authors would be included in a list in the Acknowledgement section as "Other authors". All other participants in

the study would be listed in the Acknowledgement section as "Other participants". Alternatively, group authorship may be considered.

12. Acquisition of funding: The study is supported by Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI), Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III co-financed by European Development Regional Fund "A way to achieve Europe" ERDF, Spanish Network for the Research in Infectious Diseases (REIPI RD06/0008). REIPI provides funding for the online database development and server. Staff hired with REIPI funding dedicated to different research projects included in the REIPI Research Program will be dedicated part time to the project. There is no other funding.

CENTRE: _____

PRINCIPAL INVESTIGATOR: _____

SIGNATURE: _____

DATE: _____

ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD

LETTER OF INTENT

NAME OF INVESTIGATOR.....

INSTITUTION:.....

is willing to participate as a partner under the leadership of the Hospital Universitario Virgen Macarena, being Jesús Rodríguez Baño the Coordinator of the project proposal entitled "Retrospective cohort of bloodstream infections caused by multi-drug resistant Enterobacteria: impact of antimicrobial therapy on outcome".

In order to define the content of the proposal, the parties may have to exchange information of a confidential or proprietary nature presently in their possession and wish to ensure that the same remains confidential.

Each party undertake to treat any and all confidential information as confidential, to use it solely for the purpose of the preparation of the project proposal as stated in this letter, not to disclose it to any third party, and not to make it publicly available or accessible in any way, except with the prior written consent of the disclosing party.

Signed:

NAME OF INVESTIGATOR

Date:

ANEXO 3

CENTROS PARTICIPANTES PROYECTO INCREMENT

LISTADO DE INVESTIGADORES PARTICIPANTES PROYECTO INCREMENT

CENTROS PARTICIPANTES PROYECTO INCREMENT

CENTRO	PAÍS
1 Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla	ESPAÑA
2 Hospital Universitario Virgen Arrixaca de Murcia, Murcia	ESPAÑA
3 Hippokration Hospital Thessaloniki, Thessaloniki	GRECIA
4 University of Pittsburgh, Pittsburgh	EE.UU.
5 Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Parana	BRASIL
6 Wits Donald Gordon Medical Centre, Johannesburg	SUDÁFRICA
7 National Taiwan University Hospital, Taiwan	TAIWAN
8 Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona	ESPAÑA
9 Hospital 12 de Octubre, Madrid	ESPAÑA
10 Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona	ESPAÑA
11 Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla	ESPAÑA
12 Hospital Español, Rosario	ARGENTINA
13 Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca	ESPAÑA
14 Hospital Marqués de Valdecilla, Santander	ESPAÑA
15 Hospital Clinic, Barcelona	ESPAÑA
16 Hospital Bellvitge, Barcelona	ESPAÑA
17 Medical School, University of Thessaly Larissa, Atenas	GRECIA
18 Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv	ISRAEL
19 Baskent University Faculty of Medicine, Ankara	TURQUÍA
20 University General Hospital Attikon, Chaidari	GRECIA
21 Department of Medicine, University of Calgary, Calgary	CANADA
22 Hospital Universitario Reina Sofia, Córdoba	ESPAÑA
23 Hacettepe University School of Medicine, Ankara	TURQUÍA
24 Hospital La Paz, Madrid	ESPAÑA
25 Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH	EE.UU.
26 Universitätsklinikum Köln, Cologne	ALEMANIA
27 Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, A Coruña	ESPAÑA
28 Hospital Ramón y Cajal, Madrid	ESPAÑA
29 Teaching Hospital Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna	ITALIA
30 Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen	ALEMANIA
31 Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona	ESPAÑA
32 Policlinico Umberto I, University of Rome La Sapienza	ITALIA
33 Hospital Parc Taulí, Sabadell, Barcelona	ESPAÑA
34 General Hospital, Atenas	GRECIA
35 Hygeia General Hospital, Atenas	GRECIA
36 Catholic University of the Sacred Heart, Roma	ITALIA
37 Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, Brisbane	AUSTRALIA

INVESTIGADORES PARTICIPANTES EN EL PROYECTO INCREMENT

M. de Cueto, E. Salamanca, J. Gálvez, M.D. del Toro, P. Retamar, B. Gutiérrez (Hosp. Univ. V. Macarena, Seville, Spain); M. J. Schwaber (Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv, Israel); F. Pérez (Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH,

USA); M. Venditti , M. Falcone , A. Russo (Policlinico Umberto I, University of Rome La Sapienza, Italy); L. Daikos (National and Kapodistrian Universtiy of Athens, Laikon General Hospital, Athens, Greece); H. Giamarellou , Ilias Karaiskos (Hygeia General Hospital, Athens, Greece); M. Tumbarello, E. M. Trecarichi, A. R. Losito (Catholic University of the Sacred Heart, Rome, Italy); D. L. Paterson(Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, Australia); E. García, A. Hernández, J. Gómez (Hospital Universitario Virgen Arrixaca de Murcia, Spain); E. Roilides (Hippokration Hospital, Thessaloniki, Greece); Y. Doi (University of Pittsburgh, USA); F. F. Tuon (Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Parana Curitiba, PR, Brazil); W. Lowman (NHLS/Wits School of Pathology, South Africa); Po-Ren Hsueh (National Taiwan University Hospital, Taiwan); F. Navarro, B. Mirelis, N. Prim(Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain); R. San Juan, M. Fernández, J. Origüen(Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain); B. Almirante, N. Larrosa, M. Puig (Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona, Spain); J. M. Cisneros, J. Molina, V. González (Hospital Virgen del Rocío Sevilla, Spain); J. Bermejo (Hospital Español, Rosario, Argentina); A. Oliver, E. Ruiz de Gopegui , C. I. Marinescu (Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, Spain); L. Martínez, M. C. Fariñas, M. Eliecer, M. Gozalo (Hospital Marqués de Valdecilla, Santander, Spain); M. Almela (Hospital Clinic Barcelona, Spain); J. R. Paño (Hospital La Paz, Madrid, Spain); C. Peña, S. GómezZorrilla , F. Tubau (Hospital Bellvitge, Barcelona, Spain); S. Pournaras , A. Tsakris , O. Zarkotou (Medical School, University of Thessaly Larissa, Greece); Ö. K. Azap (Baskent University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey); M. Souli , A. Antoniadou, G. Poulakou (University General Hospital Attikon, Chaidari, Greece); J. Pitout (Department of Medicine, University of Calgary, Calgary, Canada); J. Torre-Cisneros, I. Gracia Ahulfinger, E. Pérez-Nadales, C. Natera (Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, Spain); M. Akova , Ö. Helvacı , A. O. Sahin (Hacettepe University School of Medicine, Ankara, Turkey); A. Hamprecht (Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene Universitätsklinikum Köln, Cologne, Germany); G. Bou (C.H. Universitario A Coruña, Spain); R. Cantón, P. Ruiz, V. Pintado (Hospital Ramón y Cajal, Madrid, Spain); P. Viale, M. Bartoletti , M. Giannella (Teaching Hospital Policlinico S. Orsola Malpighi. Bologna, Italy); E. Tacconelli (Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Germany); E. Calbo, C. Badia (Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona, Spain); O. Gasch , D. Fontanals , E. Jové (Hospital Parc Taulí , Sabadell, Spain)

ANEXO 4

CHECKLIST DE ITEMS DE ACUERDO AL DOCUMENTO STROBE.

DICOTOMIZACIÓN DE LAS VARIABLES MEDIANTE ANÁLISIS DE ÁRBOLES DE CLASIFICACIÓN Y REGRESIÓN TIPO CART

CLASIFICACIÓN DE LOS CENTROS PARTICIPANTES EN LA COHORTE DE DERIVACIÓN SEGÚN SU RIESGO DE MORTALIDAD AL DÍA 14, OBTENIDO CON EL MODELO TREENET, CONTROLADO POR LAS DEMÁS VARIABLES.

VALOR DEL FACTOR DE INFLACIÓN DE LA VARIANZA (FIV) CALCULADO PARA CONTROLAR LA INFLUENCIA DE LA MULTICOLINEALIDAD.

CHECKLIST DE ITEMS DE ACUERDO AL DOCUMENTO STROBE.

	Recommendation	Assessment in article
Title and abstract	and (a) Indicate the study design with a commonly used term in the title or abstract	Study design specified in title and abstract
	(b) Provide an informative and balanced summary in the abstract of what was done and what was found	Balanced summary included in the abstract
Background/rationale	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	The scientific background and rationale is included in the Introduction
Objectives	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	Pre-specified hypothesis and objectives are stated in the Introduction
Study design	Present key elements of study design early in the paper	Study design described in the first part of Methods
Setting	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	Described in Methods
Participants	(a) Give the eligibility criteria and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up	Described in Methods
	(b) For matched studies, give matching	This is not a matched study

	criteria and number of exposed and unexposed	
Variables	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	Defined in Methods
Data sources/ measurement	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	Specified in Methods. The same methods for data collection of data were used in the groups.
Bias	Describe any efforts to address potential sources of bias	Selection bias: inclusion of consecutive cases. Information bias: use of well defined, standard, easy to collect variables (piloted). Use of soft and hard outcome variables.
Study size	Explain how the study size was arrived at	The attempted sample size was specified in Methods
Quantitative variables	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	Quantitative variables were handled as such. No groupings were made
Statistical methods	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	Included in Methods

	(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	Included in Methods
	(c) Explain how missing data were addressed	Patients with missing data were excluded
	(d) If applicable, explain how loss to follow-up was addressed	No patient was lost to followup
	(e) Describe any sensitivity analyses	Included in Methods
Participants	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	Included in Results (Figure 1)
	(b) Give reasons for non-participation at each stage	Specified in Figure 1
	(c) Consider use of a flow diagram	Figure 1
Descriptive data	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	Table 1
	(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	Figure 1
	(c) Summarise follow-up time (eg, average and total amount)	Information for 30 days was available from all patients

Outcome data	Report numbers of outcome events or summary measures over time	Table 1
Main results	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	Specified in Results (Table 2)
	(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	Specified in methods
	(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	Not applicable
Other analyses	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	Specified in Methods and Results
Key results	Summarise key results with reference to study objectives	Specified in Abstract and Discussion
Limitations	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	Included in Discussion
Interpretation	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	Included in Discussion

Generalisability	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	Included in Discussion
Funding	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	Included

DICOTOMIZACIÓN DE LAS VARIABLES MEDIANTE ANÁLISIS DE ÁRBOLES DE CLASIFICACIÓN Y REGRESIÓN TIPO CART

Figura Suplementaria S1. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Edad en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

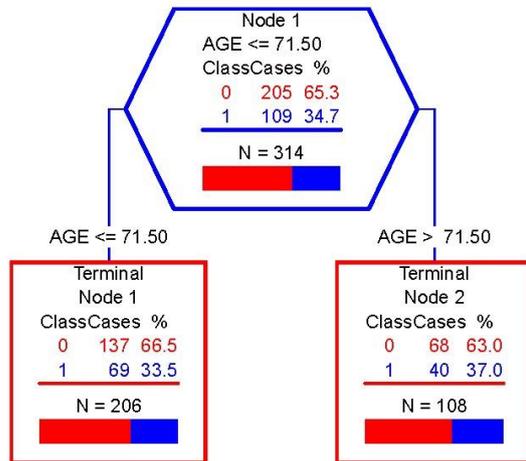


Figura Suplementaria S2. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Tipo de Enterobacteria en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

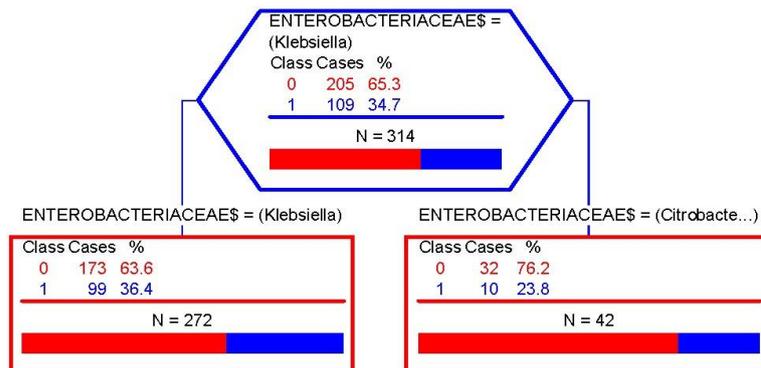


Figura Suplementaria S3. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Tipo de Carbapenemasa en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

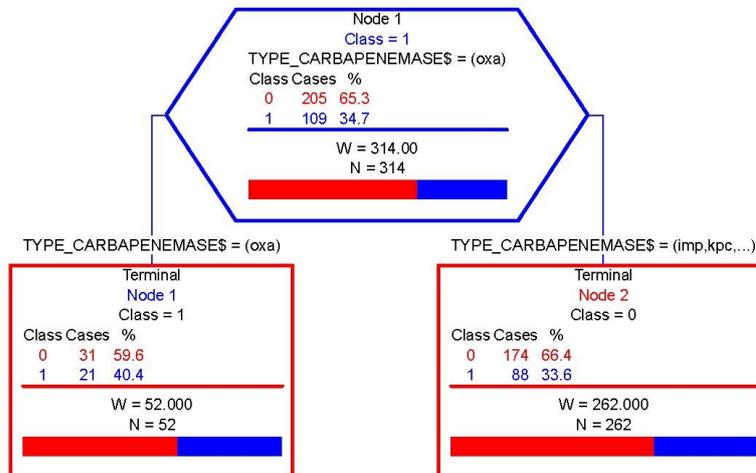


Figura Suplementaria S4. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Origen de la Bacteriemia en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

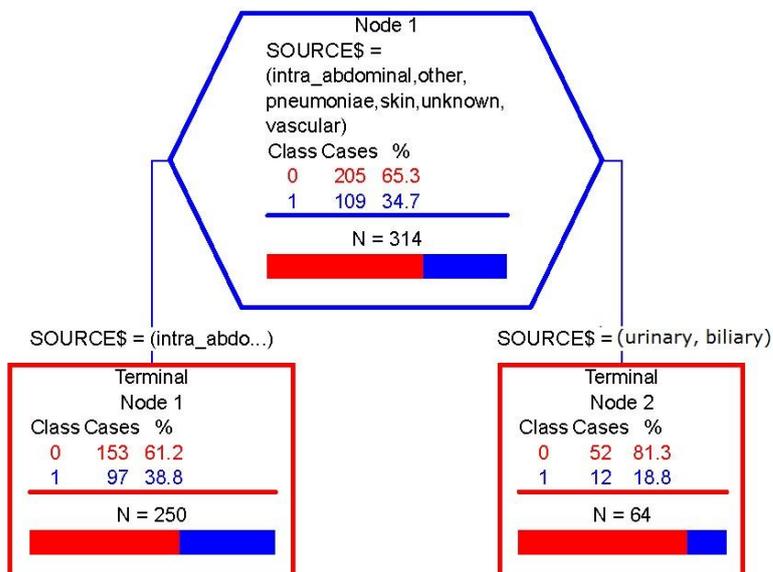


Figura Suplementaria S5. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Planta de Hospitalización en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

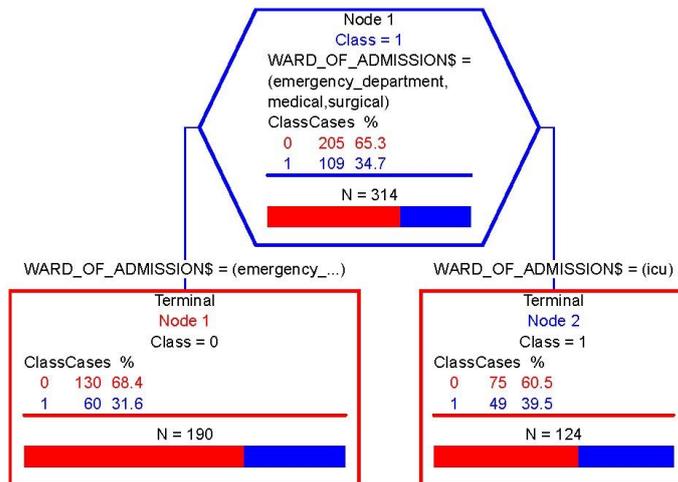


Figura Suplementaria S6. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Índice de Charlson en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

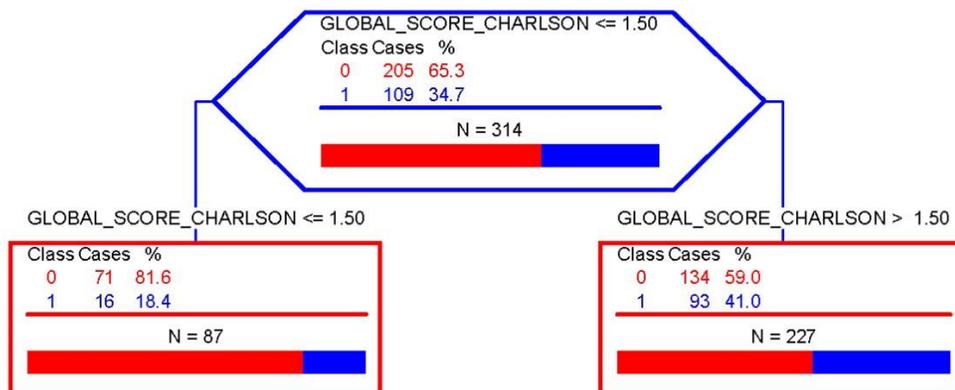


Figura Suplementaria S7. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Índice de Pitt en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

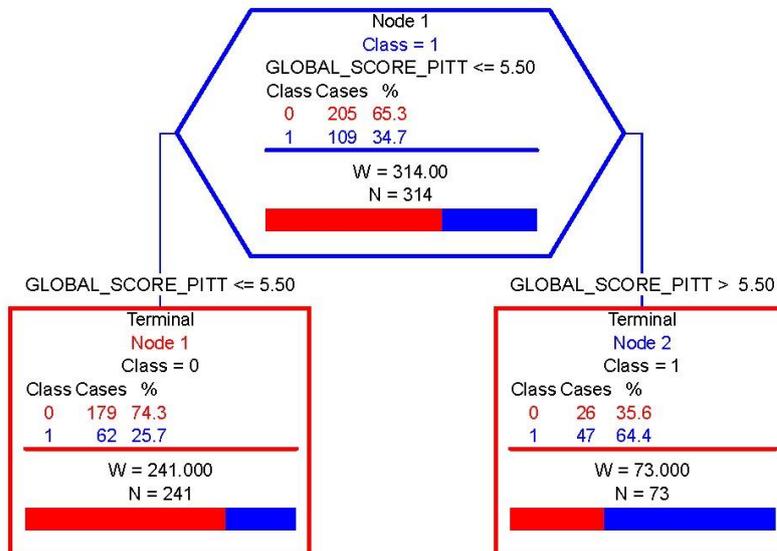


Figura Suplementaria S8. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Nivel de conciencia en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

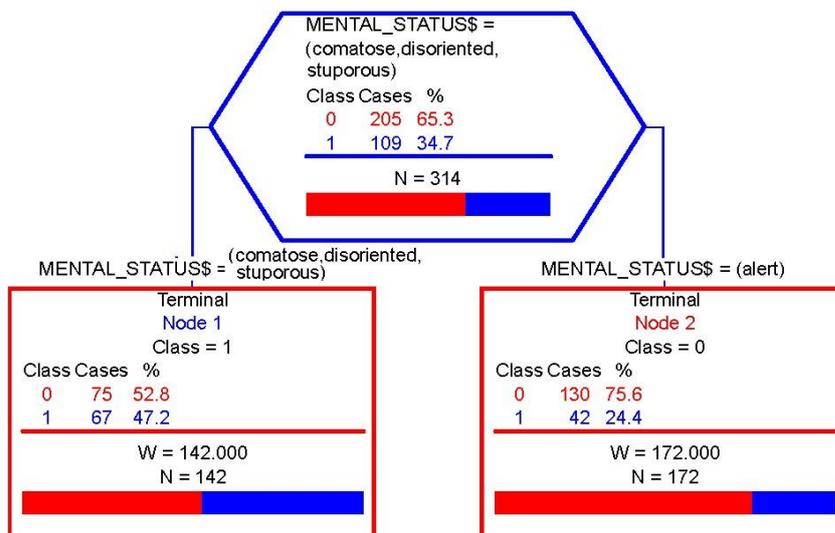


Figura Suplementaria S9. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Hepatopatía crónica en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

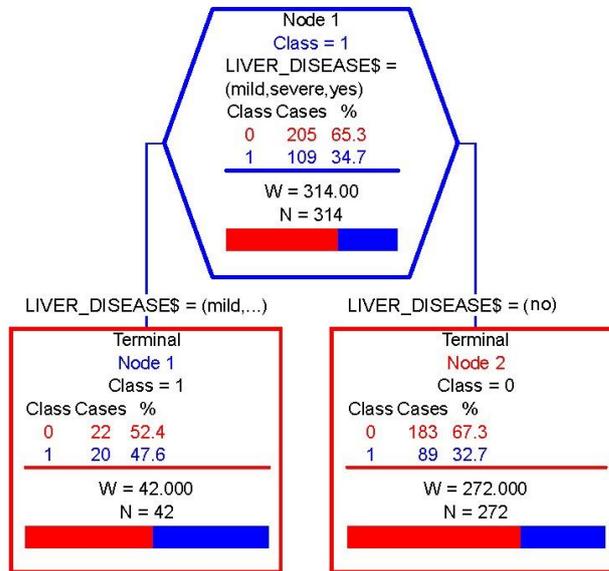


Figura Suplementaria S10. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Cáncer en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

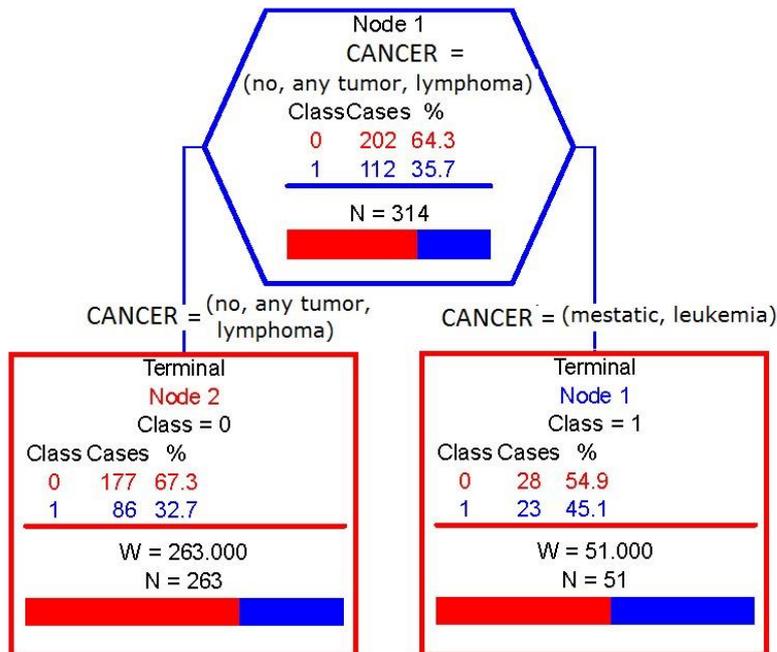


Figura Suplementaria S11. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Gravedad clínica en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14)

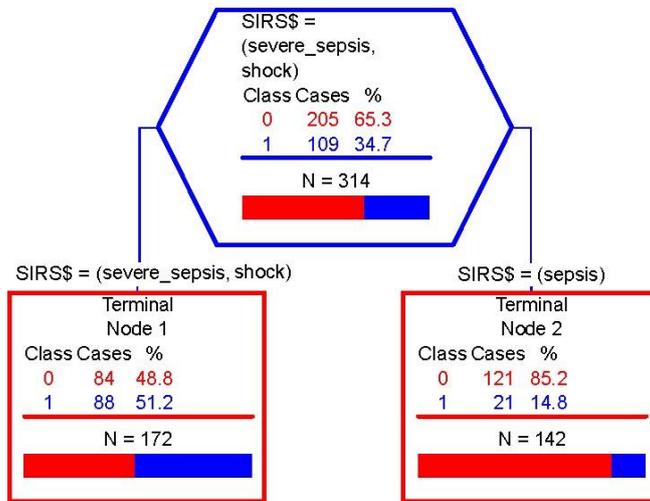


Figura Suplementaria S12. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable Tratamiento empírico y dirigido adecuados en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).

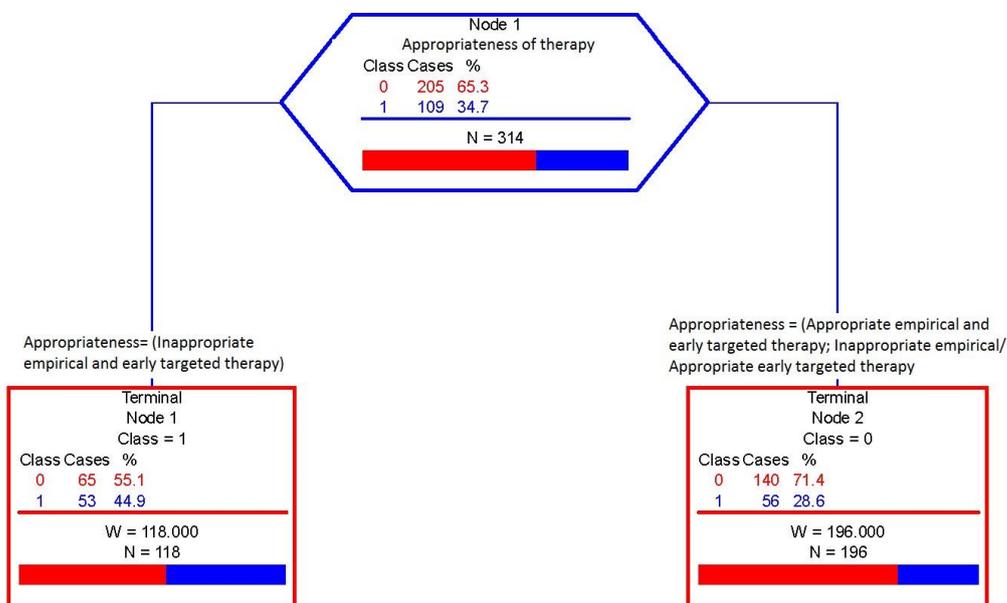
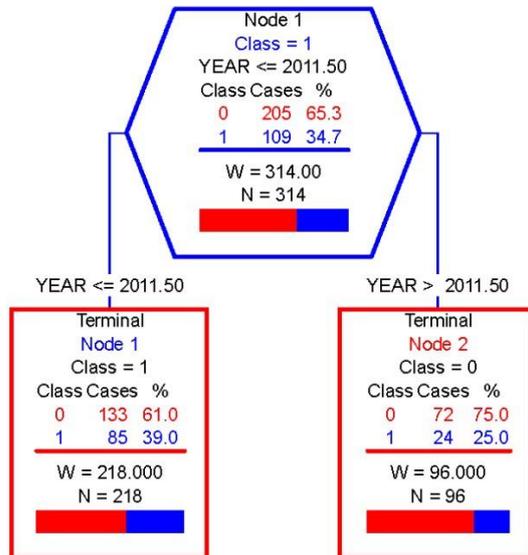
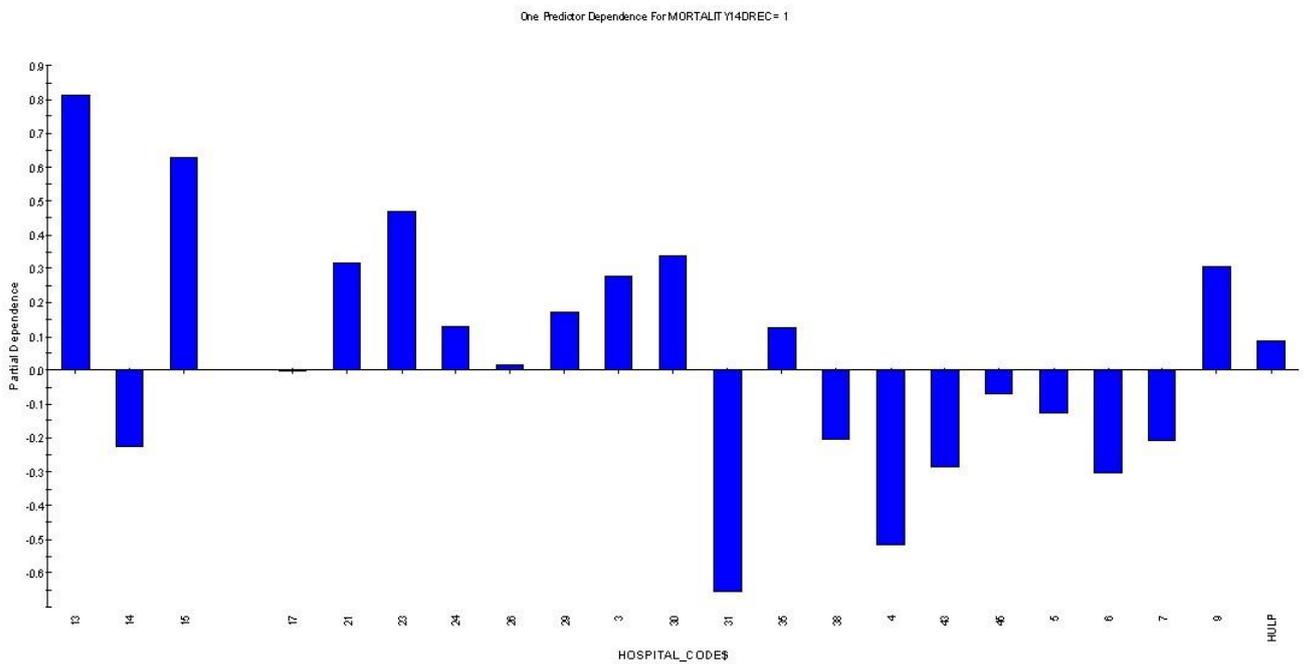


Figura Suplementaria S13. Árboles de clasificación y regresión obtenidos para dicotomizar la variable “período de estudio” en función de la evolución (0= vivo; 1=muerto al día 14).



CLASIFICACIÓN DE LOS CENTROS PARTICIPANTES EN LA COHORTE DE DERIVACIÓN SEGÚN SU RIESGO DE MORTALIDAD AL DÍA 14, OBTENIDO CON EL MODELO TREENET, CONTROLADO POR LAS DEMÁS VARIABLES.

Figura Suplementaria S14. Clasificación de los centros participantes en la cohorte de Derivación según su riesgo de mortalidad al día 14, obtenido con el modelo TreeNet, controlado por las demás variables.



Valor del Factor de Inflación de la Varianza (FIV) calculado para controlar la influencia de la multicolinealidad.

Variable	VIF
Edad >70 años	1.10
Sexo masculino	1.08
Índice de Charlson ≥ 2	1.42
Enfermedad renal crónica	1.21
Hepatopatía crónica	1.14
Leucemia o cáncer metastásico	1.23
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.28
Carbapenemasa tipo OXA	1.46
Origen de la bacteraemia distinto de urinario o biliar	1.24
Adquisición nosocomial	1.23
Ingreso en UCI	1.47
Centro de alto riesgo	1.10
Período de estudio 2005-2011	1.17
Índice de Pitt ≥ 6	1.68
Sepsis grave o shock	1.38
Nivel de conciencia, estuporoso	1.94
Tratamiento definitivo precoz no adecuado	1.06

