

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

“Tratamiento alternativo a carbapenemas y desarrollo de un sistema pronóstico de puntuación en bacteriemias por enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido”.

Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Medicina,
presentada por:

Zaira Raquel Palacios Baena

Sevilla, Octubre de 2017



Universidad de Sevilla
Facultad de Medicina
Departamento de Medicina

El Dr. D. Jesús Rodríguez Baño, Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla y el Dr. D. Álvaro Pascual Hernández, Catedrático de Microbiología de la Universidad de Sevilla,

CERTIFICAN:

Que la tesis presentada para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla titulada **“Tratamiento alternativo a carbapenemas y desarrollo de un sistema pronóstico de puntuación en bacteriemias por enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido”** ha sido realizada por Dña. Zaira Raquel Palacios Baena bajo nuestra supervisión, considerando que reúne los requisitos necesarios para su presentación.

Y para que conste donde proceda firmamos el presente documento en Sevilla a ____ de _____ de 2017.

Prof. D. Jesús Rodríguez Baño

Prof. D. Álvaro Pascual Hernández

A mi marido Daniel
A mis hijos, Pablo y Lucía

AGRADECIMIENTOS

Me parece increíble estar escribiendo estas palabras que, aunque escritas al principio de esta tesis, dan por finalizado este proyecto tan bonito que he llevado a cabo durante los últimos tres años. Este trabajo sólo ha sido posible gracias a los que durante este tiempo han estado a mi lado y a los que ahora quiero dedicarles un verdadero GRACIAS...

A mis directores de tesis Jesús y Álvaro, que me han incorporado a su equipo de trabajo sin dudarlo y que me han apoyado desde el punto de vista laboral y personal durante los últimos años. A Álvaro, por tu apoyo incondicional, por los conocimientos que me has transmitido durante los años de la carrera y la residencia y por tu trato siempre amable conmigo. A Jesús, mi mentor y maestro en el mundo de las enfermedades infecciosas, gracias por haber confiado en mí para hacer este trabajo, por tus enseñanzas, por haberme abierto las puertas de este mundillo, por tu apoyo siempre y en todo. He asumido desafíos que nunca imaginé que podría hacer, tú me has dado el impulso que he necesitado en cada momento de duda y cuando estos proyectos han salido adelante siempre me has apoyado.

A Belén, la madre de este proyecto. Gracias por tu humildad a pesar de todo lo que sabes y puedes llegar a prender. Eres una mente privilegiada, te admiro por esa capacidad que tienes de ver más allá de todo y por la familia tan preciosa que tienes. Gracias por toda tu ayuda, eres un súper ejemplo para mí.

A Virginia, has sido una madre para mí en este tiempo. Me has cuidado, has estado pendiente de todo, me has animado en todos mis proyectos, incluso en aquellos en los que mi complejo me decía que no debía participar. Si no fuera porque me has empujado a ser valiente...; te has alegrado con mis alegrías y has sufrido con mis penas, ¿qué más se puede pedir de una amiga? Sinceramente, muchas gracias.

A Isa, otra de mis maestras. Qué alegría verte cada mañana con una sonrisa de oreja a oreja, alegrando e iluminando a todo el que está cabizbajo alrededor tuya. Gracias por todo lo que hemos compartido durante este tiempo, no lo cambio por nada.

A todo el equipo de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, por todo lo que me enseñáis cada día, por las oportunidades que me habéis dado y porque sois un equipo excelente que trabaja unido. Sois un ejemplo para mí.

A todo el equipo INCREMENT por llevar a cabo este maravilloso proyecto.

A mis CoRs, los originales y los “postizos”, a mis R mayores y mis R chicos. Gracias por vuestro apoyo, me habéis hecho sentir muy querida en todo este tiempo que hemos compartido juntos. He aprendido cosas de cada uno de vosotros. A mis adjuntos y amigos,

Javier, Pepe, Quique, Antonio y Alfonso (*8ª A team*), no sabéis lo que he aprendido de vosotros...

A mis amigos y hermanos, gracias por escucharme, entenderme y ayudarme.

A toda familia, me habéis ayudado cuando os he necesitado y habéis cuidado de mis hijos como si fueran los vuestros.

Mención aparte merece mi marido, Daniel, un “gracias” inmenso que no sé cómo expresar, eres mi luz desde hace ya muchos años, sin ti nada de esto hubiera sido posible. Has sido mi principal apoyo desde que estamos juntos, cuántas veces me he desanimado y has sido siempre positivo. Muchas, muchas gracias por los hijos que me has dado, por ser un súper papi que muchas veces se ha convertido en mami cuando ésta ha estado ausente. Todos sabemos que nada de esto hubiera sido posible sin ti.

Y por supuesto, gracias a mi príncipe y mi princesa, Pablo y Lucía, por sus sonrisas y por sobrellevar mi ausencia; ¡recuperaremos ese tiempo! Os quiero.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Publicaciones en revistas indexadas

Esta tesis doctoral está basada en el compendio de los siguientes artículos originales publicados en revistas indexadas:

1. Development and validation of the INCREMENT-ESBL predictive score for mortality in patients with bloodstream infections due to extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. Palacios-Baena ZR, Gutiérrez-Gutiérrez B, De Cueto M, Viale P, Venditti M, Hernández-Torres A, Oliver A, Martínez-Martínez L, Calbo E, Pintado V, Gasch O, Almirante B, Lepe JA, Pitout J, Akova M, Peña-Miralles C, Schwaber MJ, Tumbarello M, Tacconelli E, Origüen J, Prim N, Bou G, Giamarellou H, Bermejo J, Hamprecht A, Pérez F, Almela M, Lowman W, Hsueh PR, Navarro-San Francisco C, Torre-Cisneros J, Carmeli Y, Bonomo RA, Paterson DL, Pascual Á, Rodríguez-Baño J; REIPI/ESGBIS/INCREMENT Group. *J Antimicrob Chemother.* 2017 Mar 1;72(3): 906-913. doi: 10.1093/jac/dkw513.

Factor de impacto: 4.919 (2017); Primer decil en “Pharmacy and Pharmacotherapy”, y primer cuartil en “Infectious Diseases” y en “Microbiology”.

2. Empiric Therapy With Carbapenem-Sparing Regimens for Bloodstream Infections due to Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Results From the INCREMENT Cohort. Palacios-Baena ZR, Gutiérrez-Gutiérrez B, Calbo E, Almirante B, Viale P, Oliver A, Cantón R, Gasch O, Martínez-Martínez L, Pitout J, Akova M, Peña C, Molina Gil-Bermejo J, Hernández A, Venditti M, Prim N, Bou G, Tacconelli E, Tumbarello M, Hamprecht A, Giamarellou H, Almela M, Pérez F, Schwaber MJ, Bermejo J, Lowman W, Hsueh PR, Paño-Pardo JR, de la Torre-Cisneros J, Souli M, Bonomo RA, Carmeli Y, Paterson DL, Pascual A, Rodríguez-Baño J on behalf of REIPI/ESGBIS/INCREMENT Group. *Clin Infect Dis.* 2017 Aug 19; <https://doi.org/10.1093/cid/cix606>.

Factor de impacto: 8.736 (2017); Primer decil en “Infectious Diseases”, “Microbiology” e “Immunology”.

Pósters en congresos

1. Modelo Predictivo del fracaso del tratamiento y la mortalidad en una cohorte de pacientes con bacteriemias por enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (E-BLEE). Proyecto INCREMENT. Palacios Baena ZR, Gutiérrez Gutiérrez B, Molina J, Lepe JA, de la Torre Cisneros J, Pascual A, Rodríguez Baño J, en representación del grupo INCREMENT. XVII Congreso de la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas. 2015. Marbella, Málaga.

2. Predictive model of 30-days mortality in a cohort of patients with bacteraemia due to extended spectrum β -lactamases producing Enterobacteriaceae (ESBL-E). The INCREMENT Project. Palacios Baena ZR, Gutiérrez Gutiérrez B, Viale P, Venditti M, Hernández-Torres A, Oliver A, Martínez-Martínez L, Calbo E, Pintado V, Gasch O, Almirante B, Cisneros J.M, Pitout J, Akova M, Peña-Miralles P, Schwaber M.J, Tumbarello M, Tacconelli E, San Juan Garrido R, Prim N, Bou G, Giamarellou H, Bermejo J, Hamprecht A, Pérez F, Almela M, Lowman W, Hsueh P-R, Mora-Rillo M, Torre-Cisneros J, Souli M, Carmeli Y, Bonomo R.A, Paterson D, Pascual A, Rodríguez-Baño J, and the INCREMENT Project group. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2016. Ámsterdam.

3. Impact of different schemes of antibiotics for the treatment of Bacteraemia due to Extended-Spectrum β -Lactamase producing Enterobacteriaceae in 30-day mortality: The INCREMENT project. Palacios Baena ZR, Gutiérrez Gutiérrez B, Calbo E, Almirante B, Viale P, Oliver A, Cantón R, Gasch O, Martínez-Martínez L, Pitout J, Akova M, Peña C, Molina Gil-Bermejo J, Hernández A, Venditti M, Prim N, Bou G, Tacconelli E, Tumbarello M, Hamprecht A, Giamarellou H, Almela M, Pérez F, Schwaber MJ, Bermejo J, Lowman W, Hsueh PR, Paño-Pardo JR, de la Torre-Cisneros J, Souli M, Bonomo RA, Carmeli Y, Paterson DL, Pascual A, Rodríguez-Baño J, on behalf of REIPI/ESGBIS/INCREMENT Investigators. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2017. Viena.

ÍNDICE

Agradecimientos	8
Producción científica	13
○ Publicaciones en revistas indexadas	15
○ Posters en congresos	16
Índice	18
Abreviaturas	24
Introducción	29
1. β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)	31
1.1. Definición y clasificación de las β -lactamasas.....	31
1.2. Definición y clasificación de las BLEE	33
1.2.1. Definición.....	34
1.2.2. Tipos.....	34
○ BLEE tipo TEM.....	34
○ BLEE tipo SHV	35
○ BLEE tipo CTX-M.....	35
○ BLEE tipo OXA.....	35
○ Otras BLEE	36
1.3. Epidemiología global de las BLEE	36
1.3.1. Epidemiología general por continentes	36
1.3.2. Epidemiología en España.....	37
1.3.3. Epidemiología según microorganismo.....	38
○ <i>Escherichia coli</i> productor de BLEE	38
○ <i>Klebsiella pneumoniae</i> productora de BLEE.....	39
○ Otras enterobacterias productoras de BLEE	40
1.3.4. Reservorios y mecanismos de transmisión	40
1.3.5. Factores de riesgo.....	41
1.3.6. Sistemas de control de brotes.....	42
2. Bacteriemias por Enterobacterias productoras de BLEE (E-BLEE)	42
2.1. Epidemiología	42
2.2. Lugar de adquisición y orígenes	43
2.3. Pronóstico de las bacteriemias por BLEE	44
2.4. Variables predictoras del pronóstico en las bacteriemias por E-BLEE	45
2.5. Modelos predictivos de mortalidad.....	45

3. Tratamiento de las bacteriemias por E-BLEE	46
3.1. Introducción general al tratamiento de las infecciones por E-BLEE	46
3.2. Actividad <i>in vitro</i> de los distintos antimicrobianos en E-BLEE	47
3.3. Tratamientos antimicrobianos	49
3.3.1. Carbapenemas	49
3.3.2. β -lactámicos/inhibidores de β -lactamasas (BL/IBL)	49
3.3.3. Cefalosporinas.....	51
o Otros β -lactámicos	53
3.3.4. Fluoroquinolonas	53
3.3.5. Aminoglucósidos	54
3.3.6. Otros antimicrobianos	55
o Fosfomicina.....	55
o Tigeciclina.....	55
Justificación	58
Hipótesis y objetivos	62
1. Hipótesis.....	64
2. Objetivos	64
Resultados	66
1. Development and validation of the INCREMENT-ESBL predictive score for mortality in patients with bloodstream infections due to extended spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae	68
1.1. Datos suplementarios	68
2. Empiric Therapy with Carbapenem-Sparing Regimens for Bloodstream Infections due to Extended-Spectrum β -Lactamase–Producing Enterobacteriaceae: Results from the INCREMENT Cohort.....	68
2.1. Datos suplementarios	68
3. Resumen global de los resultados	69
3.1. Desarrollo y validación del sistema de puntuación predictivo de mortalidad “INCREMENT-ESBL” en pacientes con bacteriemia por Enterobacteriaceae productoras de β -lactamasas de espectro extendido.....	69
3.2. Tratamiento empírico con regímenes exentos de carbapenemas para pacientes con bacteriemias por Enterobacteriaceae productoras de β -lactamasas de espectro extendido: Resultados de la cohorte INCEMENT	71

Discusión	74
1. Desarrollo y validación del sistema de puntuación predictivo de mortalidad “INCREMENT-ESBL” en pacientes con bacteriemia por Enterobacteriaceae productoras de β -lactamasas de espectro extendido.....	76
2. Tratamiento empírico con regímenes exentos de carbapenemas para pacientes con bacteriemias por Enterobacteriaceae productoras de β -lactamasas de espectro extendido: Resultados de la cohorte INCREMENT	82
Conclusiones	91
Bibliografía	95

ABREVIATURAS

ABC	Área bajo la curva
BL/IBL	Combinación de β -lactámico/ inhibidor de β -lactamasa
BLEE	β -lactamasas de espectro extendido
CART	Classification and regression tree
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CMI	Concentración mínima inhibitoria
E-BLEE	Enterobacteria productora de BLEE
EARSS	European Antibiotics Resistance Surveillance System
EDTA	Ácido etileno-diamino-tetra-acético
EPC	Enterobacteria productora de carbapenemasa
ESGBIS	European Study Group on Bloodstream Infections and Sepsis
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FOREST	Ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, abierto, controlado, en fase III, para evaluar la eficacia de fosfomicina vs meropenem o ceftriaxona en el tratamiento dirigido de la infección urinaria bacteriémica por <i>Escherichia coli</i> productor de beta-lactamasas de espectro extendido o multirresistente
GEIH	Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria
HR	Hazard ratio.
IC	Intervalo de confianza.
INCREMENT	An International Consortium for the clinical study of bloodstream infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae
ITU	Infección del tracto urinario
MYSTIC	Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection
OFA	Otro fármaco activo.
OR	Odds ratio.
REIPI	Red Española de Investigación en Enfermedades Infecciosas
RIC	Rango intercuartílico
ROC	Receiver operating characteristic
RR	Riesgo relativo

SEIMC	Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica
SENTRY	Antimicrobial surveillance program
SMART	Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TMS	Trimetoprim-sulfametoxazol
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos.

INTRODUCCIÓN

1. β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)

1.1. Definición y clasificación de las β -lactamasas

Las β -lactamasas son enzimas proteicas fijadoras de penicilinas que catalizan la hidrólisis del anillo β -lactámico de la estructura molecular de los antibióticos de esta familia, lo que impide que éstos inhiban la síntesis de la pared celular. Estas enzimas generan diferentes grados de resistencia a los β -lactámicos que dependen de la concentración de la enzima en el espacio plasmático, su afinidad por el antibiótico y sus propiedades hidrolíticas (Murray, 2007). Son las principales responsables de la resistencia a los antibióticos β -lactámicos en los microorganismos Gram negativos.

Se han propuesto diferentes sistemas de clasificación de las β -lactamasas en función del sustrato sobre el que actúan, las sustancias capaces de inhibirlas y la similitud de sus secuencias de aminoácidos. Las clasificaciones más empleadas son la de Ambler y la de Bush-Jacoby-Medeiros (Ambler, 1980; (Bush, 2009). La clasificación de Ambler distingue las β -lactamasas en 4 clases (A, B, C y D) en función de sus secuencias de aminoácidos. Las de clase A, C y D son serina- β -lactamasas (necesitan el aminoácido serina para ser activas) y la de clase B o metalo- β -lactamasas utilizan una molécula de zinc para ejercer su acción (Tabla 1) Las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) están incluidas en la clase A.

Tabla 1. Clasificación de las β -lactamasas de Ambler:

<i>Clase</i>	<i>Enzimas (ejemplos)</i>	<i>Espectro de hidrólisis</i>
<i>Clase A</i>	β -lactamasas de espectro extendido	Penicilinas, cefalosporinas (excepto cefamicinas), aztreonam. Inhibidas por inhibidores de β -lactamasas
	KPC	Penicilinas, cefalosporinas, aztreonam, carbapenemas. Inhibidas por inhibidores de β -lactamasas
<i>Clase B (metalo-β-lactamasa)</i>	VIM, IMP, NDM y otras	Penicilinas, cefalosporinas y carbapenemas. Sensibilidad a monobactámicos. No inhibidos por inhibidores de β -lactamasas
<i>Clase C</i>	CMY-2, DHA-1, FOX-1 y otras	Penicilinas, cefalosporinas, (excepto cefepime) y monobactámicos. No inhibidos por inhibidores de β -lactamasas clásicos
<i>Clase D</i>	OXA-48, OXA-48 like, OXA-23 y otras	Penicilinas, aztreonam y carbapenemas. No inhibidos por inhibidores de β -lactamasas clásicos

La clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros se basa en el espectro de acción hidrolítica y el efecto de los inhibidores, y establece 3 categorías fundamentales con múltiples subgrupos. Se trata de una clasificación mucho más compleja que la anterior pero más intuitiva desde el punto de vista clínico y microbiológico. Incluye 3 grupos: grupo 1 (cefalosporinasas), grupo 3 (metalo- β -lactamasas) y el grupo 2 que incluye enzimas heterogéneas (penicilinasas, cefalosporinasas, oxacilinasas y carbapenemasas). El grupo 1 corresponde a la clase C de Ambler; estas enzimas pueden ser plasmídicas o cromosómicas y no se inhiben por los inhibidores de β -lactamasas clásicos como el ácido clavulánico. El grupo 2 incluye enzimas pertenecientes a la clase A y D de Ambler y son inhibidas por inhibidores de β -lactamasas; el grupo 2b incluye las BLEE. El grupo 3 corresponde a la clase B de Ambler y se inhiben por agentes quelantes como el ácido etileno-diamino-tetra-acético (EDTA) (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de las β -lactamasas de Bush-Jacoby:

<i>Bush-Jacoby</i>	<i>Ambler</i>	<i>Sustrato</i>	<i>Inhibidos por:</i>		<i>β-lactamasas</i>
			IBL	EDTA	
<i>1</i>	C	Cefalosporinas	No	No	AmpC, FOX-1, CMY-2
<i>1e</i>	C	Cefalosporinas	No	No	GC-1, CMY-37
<i>2a</i>	A	Penicilinas	Sí	No	PC1
<i>2b</i>	A	Penicilinas y C1G	Sí	No	TEM-1, TEM-2, SHV-1
<i>2be</i>	A	C1G, C4G, monobactámicos	Sí	No	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
<i>2br</i>	A	Penicilinas	No	No	TEM-30, SHV-10
<i>2ber</i>	A	C1G, C4G, monobactámicos	No	No	TEM-50
<i>2c</i>	A	Carbenicilina	Sí	No	PSE-1, CARB-3
<i>2ce</i>	A	Carbenicilina, cefepima	Sí	No	RTG-4
<i>2d</i>	D	Cloxacilina	Variable	No	OXA-1, OXA-10
<i>2de</i>	D	C1G, C4G	Variable	No	OXA-11, OXA-15
<i>2df</i>	D	Carbapenemas	Variable	No	OXA-23, OXA-48
<i>2e</i>	A	C1G, C4G	Sí	No	CepA
<i>2f</i>	A	Carbapenemas	Variable	No	KPC-2, IMI-1, SME-1
<i>3a</i>	B	Carbapenemas	No	Sí	IMP, VIM, GIM, SPM, SIM, NDM
<i>3b</i>	B	Carbapenemas	No	Sí	CAU, GOB, FEZ

IBL: Inhibidores de β -lactamasas; C1G: Cefalosporina de 1ª generación; C4G: Cefalosporina de 4ª generación.

1.2. Definición y clasificación de las BLEE

En 1983 se describió por primera vez la aparición de una β -lactamasa plasmídica capaz de hidrolizar las cefalosporinas de 3ª generación; esta β -lactamasa provenía de la β -lactamasa SHV-1, siendo su secuencia diferente en un solo nucleótido. Pronto se descubrieron derivados de TEM-1 y TEM-2 capaces de hidrolizar igualmente cefalosporinas de 3ª generación. A estos nuevos mutantes que conferían resistencia a estos fármacos se les denominó β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y desde entonces se han extendido de forma llamativa por todo el mundo (Paterson, 2005). Posteriormente se describieron BLEE procedentes de otras familias.

1.2.1. Definición

No hay consenso sobre una definición precisa y adecuada para las BLEE, pero la más usada es que son β -lactamasas capaces de conferir resistencia a penicilinas, oxi-imino-cefalosporinas (pero no a cefamicinas ni carbapenemas) y aztreonam, y que son inhibidas por inhibidores de β -lactamasas clásicos como el ácido clavulánico y el tazobactam (Paterson, 2005). Esta propiedad las diferencia de las β -lactamasas de tipo AmpC (grupo 1), que no se inhiben por ácido clavulánico (y además, éstas hidrolizan las cefamicinas, pero no cefepima). Los microorganismos productores de BLEE que se aíslan con mayor frecuencia son *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.*; sin embargo, cada vez son más habituales también en especies de *Enterobacter*, *Serratia*, *Salmonella* y *Proteus* (Rodríguez-Baño, 2008).

1.2.2. Tipos

Hay tres familias fundamentales de BLEE (TEM, SHV y CTX-M) y otras menos frecuentes. Las familias TEM y SHV derivan genotípicamente, como hemos visto, de TEM-1 y SHV-1. Por regla general son más activas frente a ceftazidima que frente a cefotaxima, y fueron las más frecuentes en los años 80 y 90 del siglo pasado. Las enzimas de la familia CTX-M derivan fenotípicamente de una cefalosporinasa cromosómica de *Kluyvera spp.*, y son habitualmente más activas frente a cefotaxima que a ceftazidima (de ahí su nombre de cefotaximasas o CTX-M). Actualmente es la familia de BLEE más frecuente (Rodríguez-Baño, 2008). A continuación, se describen más detalles de cada una de las BLEE descritas arriba y de las que encontramos con menos frecuencia.

BLEE tipo TEM

Las BLEE tipo TEM derivan de TEM-1 y TEM-2, enzimas éstas que hidrolizan con mucha potencia a ampicilina y que son inhibidas por el ácido clavulánico. En una Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal en Liverpool se detectó en 1982 un aislado de *K. oxytoca* resistente a ceftazidima, encontrándose que la enzima responsable era TEM-12 (Payne, 1990). En 1987 se detectó en *K. pneumoniae* un plásmido que contenía una enzima que inicialmente se llamó CTX-1 por su actividad cefoxitinasas y posteriormente TEM-3 (Brun Buisson, 1987; Sirot, 1987). Otra TEM importante es TEM-24 que ha tenido una importante diseminación clonal en cepas de *Enterobacter aerogenes* y otras enterobacterias en Francia e Italia

(Bertrand, 2003; Perilli, 2002) y también en España (Salso, 2003; Cantón, 2002). Actualmente se han descrito un total de 223 BLEE tipo TEM (Lahey, 2017).

BLEE tipo SHV

Durante años fueron las que se encontraron con mayor frecuencia entre los aislados de enterobacterias. También se han relacionado con cepas epidémicas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* (Huang, 2004; Poirel, 2004). Las SHV fueron las primeras BLEE que se describieron en España (Baquero, 1988) así como las causantes de los primeros brotes (Fernández-Rodríguez, 1992). Se han encontrado en prácticamente todos los nichos ecológicos (Liakopoulus, 2016) y se ha vaticinado que podrían adquirir más sustratos sobre los que actuar, incluyendo carbapenemas (Tzouvelekis, 1999; Poirel, 2003). Hasta el momento se han descrito hasta 193 BLEE tipo SHV (Lahey, 2017).

BLEE tipo CTX-M

La BLEE tipo CTX-M derivan de una cefalosporinasa cromosómica de *Kluyvera spp.* que se movilizó a un plásmido mediante una secuencia de inserción específica (Livermore, 2012; Bonnet, 2004). Actualmente son las BLEE más diseminadas en todos los países, incluido EEUU donde tardaron más en aparecer (Lewis, 2007). Esta enzima proliferó primero de forma espectacular en aislados de *E. coli* tanto en la comunidad como en los hospitales, y posteriormente en aislados de *Klebsiella spp.* de origen sobre todo nosocomial. La familia de las CTX-M está constituida por 172 miembros (Lahey, 2017) entre variantes plasmídicas y cromosómicas, agrupadas en 5 *clusters* o sub-familias (1, 2, 8, 9 y 25). CTX-M 15 (perteneciente al grupo CTX-M-1) es actualmente la más prevalente en todo el mundo (Pitout, 2010). En *E. coli*, su diseminación se ha producido sobre todo en aislados pertenecientes al clon exitoso ST131, que frecuentemente co-producen otras β -lactamasas como TEM-1 y OXA-1, y con enzimas modificantes de aminoglucósidos como AAC(6')-Ib-CR.

BLEE tipo OXA

Las BLEE tipo OXA deben su nombre a su alta capacidad de hidrolizar la oxacilina en comparación con la que tienen para las bencilpenicilinas (Bush, 1995). Aunque predominan en *Acinetobacter spp.* también se encuentran en otros bacilos Gram negativos. La OXA BLEE más frecuente es OXA-10, que hidroliza ceftriaxona, cefotaxima y aztreonam. Otras enzimas

OXA tienen principalmente actividad carbapenemasa y no cefalosporinasa, como OXA-48. Actualmente la familia OXA cuenta con al menos 498 enzimas diferentes según la clasificación de Lahey (Lahey, 2017).

Otras BLEE

Otros tipos de BLEE mucho menos frecuentes son PER, VEB-1, BES-1, GES, etc.

1.3. Epidemiología global de las BLEE

1.3.1. Epidemiología general por continentes

Europa fue el primer continente donde se detectaron las BLEE, inicialmente en Alemania (Knothe, 1983) e Inglaterra (Du Bois, 1995). Posteriormente se describieron casos en Francia, donde se describió el primer brote en 1986 en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) con transmisión posterior al resto de servicios (Brun Buisson, 1987). En ese país, durante la década de los 90, el 25-30% de los aislados de *K. pneumoniae* eran productores de BLEE. Posteriormente esta prevalencia se ha visto reducida, probablemente en relación con la implantación de determinadas políticas de antibióticos y el control de infecciones.

Ya en los años 90 se apreciaba una importante diferencia en la prevalencia de BLEE entre los países del norte y del sur de Europa; así, en las UCI, la prevalencia de *K. pneumoniae* productor de BLEE era del 3% en Suecia y del 34% en Portugal (Hanberger, 1999). Los últimos datos registrados por el European Antimicrobial Surveillance System (EARSS) en 2015, que lleva a cabo la monitorización de las resistencias antibióticas en aislados de muestras invasivas (básicamente hemocultivos) en Europa, muestra una prevalencia de *E. coli* resistente a cefalosporinas de 3ª generación (la mayoría de los cuales son productores de BLEE) que varía entre los distintos países, con un rango entre el 1.7% de Islandia y el 38.5% de Bulgaria. Con respecto a *K. pneumoniae* resistente a cefalosporinas de 3ª generación (la mayoría de los cuales son también productores de BLEE), los países con menor prevalencia son Islandia, Finlandia, Suecia y Noruega (1-5%) mientras que Bulgaria, Rumanía y Grecia son los que mayor prevalencia presentan (75%, 70.7% y 69.5% respectivamente) (EARSS 2015).

En la región de Asia-Pacífico se ha descrito una prevalencia en la producción de BLEE del 33% en *E. coli*, 60% en *K. pneumoniae*, 7.7% en *Enterobacter cloacae*, 60% en *Citrobacter freundii* y 50% en *K. oxytoca* (Sheng, 2013).

Una revisión sistemática de la literatura sobre la prevalencia de BLEE en África demuestra que ésta ha aumentado desde el 11% al 77% en Túnez, donde se han publicado la mayoría de los artículos referentes al área africana. Con respecto al resto de países se han observado diferencias sustanciales entre ellos. En Tanzania se ha encontrado una prevalencia del 50% en *K. pneumoniae*, siendo las CTX-M las BLEE más prevalentes (Sangare, 2015).

En Estados Unidos la resistencia a cefalosporinas de 3ª generación se ha visto aumentada en los últimos años alcanzando el 23% de los aislados de *K. pneumoniae* y el 14% de los aislados de *E. coli* en infecciones asociadas al ámbito sanitario (CDC report, 2013). En cuanto a Iberoamérica, el programa SENTRY describió en 2012 la tendencia de resistencias entre más de 12.500 aislados recogidos de 10 países diferentes; las tasas de *E. coli* resistente a cefalosporinas más altas se encontraron en México con un 48.8% y las de *Klebsiella* spp. en Chile, con un 59.2% (Gales, 2012).

1.3.2. Epidemiología en España

En España el Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria (GEIH) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas (SEIMC) ha llevado a cabo 2 estudios multicéntricos que abarcaron 40 y 44 hospitales españoles, respectivamente, sobre *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE. El primer estudio, realizado en el año 2000, recogió un total de 240 aislados productores de BLEE, de los que 170 (71%) fueron *E. coli* y 70 (29%) *K. pneumoniae*. Estas cepas se aislaron en el 90% de los hospitales participantes. Las cepas productoras de BLEE suponían el 0,5% del total de *E. coli* aislados y el 2,7% de *K. pneumoniae*. En el año 2006, el porcentaje de cepas productoras de BLEE había aumentado al 4.04% en *E. coli* y al 5.04% en *K. pneumoniae* (Díaz, 2009; Hernández, 2003). En el informe EARSS de 2015 España presenta un porcentaje de *E. coli* resistente a cefalosporinas de 3ª generación del 11.6% siendo este porcentaje menor que los años previos mostrando una ligera tendencia al descenso entre 2012 y 2015. Con respecto a *Klebsiella* el porcentaje es del 20.8% y a diferencia de lo que ocurre con *E. coli*, *Klebsiella* muestra una tendencia ascendente con respecto a los años previos (EARSS 2015).

1.3.3. Epidemiología según microorganismo

Como se ha explicado previamente, la mayoría de los estudios se han focalizado en *E. coli* y *K. pneumoniae* ya que son los microorganismos más frecuentemente productores de BLEE. A continuación, se describen las características epidemiológicas específicas de éstos y otros microorganismos.

Escherichia coli productor de BLEE

Desde finales del siglo pasado, la prevalencia de *E. coli* BLEE ha aumentado de forma exponencial sobre todo a expensas de aislados de pacientes no hospitalizados. En el estudio llevado a cabo por el GEIH en 2006 se observó cómo el 36% de las cepas de *E. coli* BLEE fueron de adquisición estrictamente comunitaria, el 35.7% asociado a los cuidados sanitarios y el 29% de origen nosocomial estricto (Díaz, 2009). Rodríguez Baño et al. llevaron a cabo uno de los primeros estudios observacionales de pacientes con infecciones extrahospitalarias causadas por estos microorganismos, incluyendo datos de 49 pacientes, de los cuales el 57% tenían infecciones del tracto urinario (ITU) recurrentes y el 67% habían recibido algún tratamiento antibiótico en los 2 meses previos. El 64% de los aislados eran *E. coli* productores de enzimas del grupo CTX-M-9 (posteriormente se caracterizaron específicamente como CTX-M-14) (Rodríguez-Baño, 2004). El aumento de cepas comunitarias de *E. coli* BLEE en España se relacionó en aquellos años con la diseminación de determinados plásmidos en distintos clones (Velasco, 2007). Esta aparición de aislados de *E. coli* BLEE ocurrió en todo el mundo y supuso un cambio en la epidemiología de las BLEE en la que previamente predominaban aislados de *K. pneumoniae* nosocomiales, siendo sobre todo enzimas TEM y SHV, para dejar paso a un predominio de cepas de *E. coli*, productoras de CTX-M y de adquisición tanto comunitaria como nosocomial (Rodríguez-Baño, 2006). En un estudio realizado en los hospitales Virgen Macarena y San Lázaro de Sevilla se encontró relación clonal entre algunos aislados de *E. coli* productores de SHV-12 y TEM, sugiriendo una transmisión nosocomial de los mismos, mientras que los productores de CTX-M mostraron escasa relación clonal de manera similar a lo encontrado en aislados comunitarios (Rodríguez-Baño, 2006).

Durante años, la BLEE más frecuente en España en *E. coli* fue CTX-M-14 (Díaz, 2009). Sin embargo, en los últimos años ha aumentado considerablemente el número de cepas productoras de CTX-M-15, sobre todo asociada a la diseminación del clon ST131, por lo que

esta enzima podría ser la BLEE más frecuente en la actualidad, al menos en algunas áreas (Calbo, 2015). Es de resaltar que, en la provincia de Sevilla, el porcentaje de cepas de *E. coli* productoras de SHV-12 siempre fue elevado (Rodríguez-Baño, 2008).

Como se ha comentado, determinadas BLEE (sobre todo CTX-M-15) se han diseminado principalmente con los aislados de un clon específico de *E. coli*, ST131. Este grupo clonal ST131 ha emergido como contribuyente importante al total de las infecciones por *E. coli* en general, y productores de BLEE en particular. Se ha estimado que el 17% de los *E. coli* aislados en muestras clínicas en EEUU y el 12% en España pertenecen a este clon (López-Cerero, 2014). Los aislados ST131 son muy frecuentemente resistentes a quinolonas (67%), y un porcentaje de los mismos son productores de BLEE (10-66% según las series), sobre todo CTX-M-15, así como de OXA-1 (Nicolas, 2014). Hay muchos aspectos de su epidemiología no bien conocidos, pero se cree que el principal reservorio es el humano y que la transmisión persona-persona juega un papel fundamental en la exitosa diseminación que está teniendo este clon. Un estudio reciente realizado en nuestra área muestra los factores de riesgo asociados a la adquisición de cepas de este clon (ya sea infección o colonización), entre los cuales se incluyen el sexo masculino, mientras que la adquisición relacionada con los cuidados sanitarios y el uso previo de antibióticos actuaron como factores protectores (López-Cerero, 2014).

***Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE**

Como se ha comentado, hasta finales de los años 90 los aislados de *K. pneumoniae* que expresaban BLEE eran principalmente nosocomiales y casi todos productores de SHV y TEM. Con la emergencia de CTX-M-15, esta enzima se ha diseminado con determinados clones epidémicos y también mediante la transmisión entre clones de diferentes plásmidos que portan esta enzima (Calbo, 2015).

K. pneumoniae productor de BLEE ha sido ampliamente estudiada en la literatura por ser la causante de una gran cantidad de brotes nosocomiales (Valsdottir, 2017; Banerjee T, 2016); de hecho, se considera que *K. pneumoniae* puede ser un reservorio de genes de multirresistencias del que pueden alimentarse otros patógenos hospitalarios mediante la transmisión de elementos móviles (Tato, 2007). Los brotes son más frecuentes en determinadas áreas de los hospitales como UCI (Al Sweih, 2011; Manzur, 2007), unidades de onco-hematología (Uemura, 2017) y UCI pediátricas y neonatales (Stapleton, 2016), donde se

encuentran los pacientes más predispuestos y sometidos a mayor presión antibiótica, en los que las tasas de mortalidad han llegado a alcanzar el 85% (Calbo, 2015).

K. pneumoniae y *K. oxytoca* son capaces de colonizar la piel y los fómites (Drusano 1998; Podschun, 1998) y persistir en elementos inanimados alrededor de los pacientes, así como en reservorios ocultos, incluyendo los sistemas de drenaje de lavabos (Vergara-López, 2013). *K. pneumoniae* también se han encontrado en productos cárnicos crudos (Egea, 2012), alimentos preparados y en las manos del personal manipulador de alimentos (Lavilla, 2008). Además, *K. pneumoniae* BLEE es también capaz de producir casos estrictamente comunitarios en personas sanas (Kader, 2007), aunque con menos frecuencia.

Otras enterobacterias productoras de BLEE

Las BLEE se han descrito en otras enterobacterias aunque con una prevalencia menor. El estudio MYSTIC realizado en Europa y EEUU revela una prevalencia de *Enterobacter*, *Citrobacter* y *P. mirabilis* productores de BLEE por debajo del 4% (Goossens, 2005). Los datos del estudio SENTRY realizado en Latinoamérica demuestran que el 5.3% de los *Proteus* son productores de BLEE. El estudio SMART de 2004 realizado en 81 centros repartidos por todo el mundo, mostró que el 22% de las cepas de *Enterobacter* eran productoras de BLEE, siendo las BLEE más frecuentes TEM-4, TEM-24, TEM-52, SHV-12, CTX-M-9, CTX-M-14, CTX-M-3, CTX-M-15 y CTXM-32 (Rossi, 2006).

1.3.4. Reservorios y mecanismos de transmisión

Encontramos tres tipos de reservorios: humanos, animales y ambientales. Las enterobacterias productoras de BLEE (E-BLEE) colonizan el intestino de los seres humanos, bien sanos o enfermos, lo que es importante desde el punto de vista epidemiológico. Rodríguez Baño *et al.* estudiaron a 53 pacientes ambulatorios con ITU por *E. coli* BLEE y sus familiares convivientes y no convivientes, encontrando que el hecho de ser conviviente con un paciente infectado por *E. coli* BLEE se asociaba con mayor probabilidad de ser portador rectal de estas cepas (Rodríguez-Baño, 2008). En brotes nosocomiales, la colonización intestinal por cepas (sobre todo) de *K. pneumoniae* BLEE en pacientes es frecuente.

En cuanto a los reservorios animales, se considera que el consumo de carne derivado de animales de granja, principalmente aves de corral, podría estar relacionado con la transmisión a humanos y la colonización intestinal de E-BLEE, representando los animales un

reservorio desde donde los elementos genéticos móviles portadores de BLEE pueden ser transferidos (Warren, 2008; Smet, 2008; Lavilla, 2008; Doi, 2010; Egea 2012).

Con respecto a los reservorios ambientales se han encontrado E-BLEE en diversos entornos, incluyendo agua de ríos (Kittinger, 2016), aguas residuales (Conte, 2017) o peceras (Boonyasiri, 2014). En el ámbito hospitalario *K. pneumoniae* productor de BLEE puede sobrevivir durante días en superficies alrededor de los pacientes colonizados o infectados (Hendrik, 2015). Además, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* se han encontrado en reservorios ocultos, incluyendo los drenajes de los lavabos donde pueden persistir durante mucho tiempo en forma de biopelículas (Vergara-López, 2013; Muzslay, 2017).

1.3.5. Factores de riesgo

Existen numerosos estudios sobre los factores de riesgo para la adquisición (colonización y/o infección) de E-BLEE tanto en pacientes hospitalizados como en pacientes ambulatorios. El análisis de los resultados de estos estudios puede llevar a confusión ya que hay una gran variabilidad en las poblaciones de estudio, la elección de los controles, el ámbito, etc. Sin embargo, podemos hacer un resumen de los distintos resultados obtenidos.

De forma global los pacientes con infecciones nosocomiales por E-BLEE con frecuencia padecen enfermedades crónicas de base, tienen estancias hospitalarias prolongadas y han sido sometidos a procedimientos invasivos como sondajes urinarios, catéteres centrales, cirugías y tubos endotraqueales. La media de estancia hospitalaria previa al aislamiento de BLEE es variable según los estudios, pero podemos decir que se encuentra entre 11 y 67 días de forma global (Paterson, 2005). Una gran variedad de otros factores se ha encontrado en los diversos trabajos, pero en general se refieren a la exposición a procedimientos invasivos como la inserción de sondas nasogástricas (Asensio, 2000), gastrostomías o yeyunostomías (Schiapa, 1996), catéteres vasculares, nutrición enteral y parenteral (Peña, 1997), cirugías (De Champs, 1991), hemodiálisis, etc. En cuanto al uso previo de antibióticos, haber recibido previamente ox-imino- β -lactámicos y/o fluoroquinolonas son un factor de riesgo para las infecciones nosocomiales por E-BLEE (Rodríguez-Baño, 2006; Rodríguez-Baño, Navarro, 2006; Rodríguez-Baño, Pascual, 2008).

En cuanto a las infecciones comunitarias, estudios específicos en nuestro medio y sobre *E. coli* BLEE han detectado los siguientes factores de riesgo: edad mayor de 60 años, sexo femenino, diabetes mellitus, infección relacionada con los cuidados sanitarios, cirrosis, ITU de repetición, alteraciones obstructivas del tracto urinario y el haber recibido

recientemente aminopenicilinas, quinolonas o cefalosporinas como tratamiento antibiótico (Rodríguez-Baño, Alcalá, 2008). Estudios recientes han encontrado que los viajes a zonas de alto riesgo son un factor de riesgo de colonización relevante (Delgado-Valverde, 2013).

1.3.6. Sistemas de control de brotes

Ante la aparición de brotes nosocomiales por E-BLEE se deben poner en marcha una serie de medidas para intentar su control lo antes posible. Dentro de estas medidas se incluye la promoción de la higiene de manos, la búsqueda activa de pacientes colonizados, la desinfección exhaustiva de los dispositivos y fómites en contacto con el paciente, y la instauración de precauciones de contacto con los pacientes colonizados; es recomendable intentar reducir el uso de quinolonas y cefalosporinas, y cuando las medidas previas no son suficientes, es necesario descartar la existencia de reservorios ambientes ocultos (Rodríguez-Baño, 2006; Rodríguez-Baño, Navarro, 2006; Rodríguez-Baño, Pascual, 2008; Asensio, 2000; Bradford, 2001; Peña, 1998; Velasco, 2009).

2. Bacteriemias por Enterobacterias productoras de BLEE (E-BLEE)

2.1. Epidemiología

De manera global, cuando se consideran todos los microorganismos, parece que la incidencia de bacteriemia ha aumentado. Así, en una cohorte de bacteriemias estudiadas en un centro de nuestro país se observó una incidencia de 16 casos por 1000 ingresos en 1985, que aumentó a 31.2 por 1000 ingresos en 2008, lo que supuso un incremento anual de 0.83 episodios/1000 ingresos. Este aumento de incidencia se ha relacionado con el envejecimiento de la población, el uso cada vez más frecuente de dispositivos, el aumento de las resistencias microbianas y muy probablemente con la mejora en las técnicas de laboratorio (Rodríguez-Créixems 2008).

Las enterobacterias están, como grupo, entre las principales causas de bacteriemia de origen comunitario y nosocomial, y de ahí que las resistencias a antimicrobianos en estos microorganismos tengan una importante repercusión en el uso de antimicrobianos y en el pronóstico de los pacientes con este tipo de infección. En un estudio reciente de bacteriemias por enterobacterias de origen comunitario realizado en 50 hospitales de Francia se ha

observado que el 8.5% de ellas (58/682) fueron debidas a aislados productores de BLEE (11.7% de las bacteriemias relacionadas con los cuidados sanitarios y el 6.16% de las estrictamente comunitarias) (Zahar, 2017). Un estudio multicéntrico realizado en la comunidad andaluza entre 2006 y 2007 mostró que, entre las bacteriemias por *E. coli*, el 19% de las nosocomiales, el 8% de las relacionadas con los cuidados sanitarios y el 9% de las estrictamente comunitarias fueron por cepas productoras de BLEE; con respecto a *Klebsiella* spp., las cepas productoras de BLEE alcanzaron el 8% dentro de todas las bacteriemias nosocomiales, el 8% de las relacionadas con los cuidados sanitarios y el 5% de las estrictamente comunitarias (Rodríguez Baño, López-Prieto, 2010). Estudios más recientes muestran una prevalencia de BLEE en bacteriemias por *E. coli* de origen urinario del 9.2% (39/425); 34 de los 39 aislados fueron productores de CTX-M (21 eran CTX-M-15), siendo el clon más prevalente el ST131 (Merino, 2016).

2.2. Lugar de adquisición y orígenes

En cuanto a las características clínicas y epidemiológicas de las bacteriemias por *Klebsiella* BLEE, los orígenes más frecuentes son, en las distintas series publicadas, el desconocido (28%-54%), respiratorio (8%-41%), intraabdominal (6%-38%), catéter vascular (11%-36%) y urinario (18%-29%); la frecuencia de presencia de shock séptico oscila entre el 14% y el 27%, (Paterson, 2004; Kang, 2004; Peña, 2001; Kim, 2002; Tumbarello, 2006). La mortalidad oscila entre el 25 y el 52% del día 7 al 21 (Tumbarello, 2006). Los principales factores de riesgo para las bacteriemias por *Klebsiella* BLEE son la mayor estancia hospitalaria, el uso previo de cefalosporinas, los catéteres vasculares y urinarios, otros procedimientos invasivos, la diabetes y el cáncer (Rodríguez-Baño, Pascual, 2008).

Con respecto a *E. coli* BLEE, en un estudio realizado en nuestra área, el 46% de las bacteriemias fueron de origen urinario, el 21% biliar, seguidos de bacteriemia primaria (9%) y el origen respiratorio (5%). La mortalidad cruda a los 30 días fue del 21% (Rodríguez-Baño, 2006). En cuanto a las bacteriemias de presentación comunitaria, un estudio multicéntrico español mostró que los factores de riesgo asociados a su adquisición fueron la edad mayor de 65 años, el sexo femenino, la bacteriemia asociada a los cuidados sanitarios, la cirrosis hepática, la obstrucción del tracto urinario, el uso de sondaje vesical y el uso reciente de antibioterapia, específicamente de fluoroquinolonas. Estos resultados se corroboraron en una revisión sistemática posterior (Ben-Ami, 2009). Otros factores de riesgo encontrados en otros estudios fueron el uso de cefalosporinas y la estancia en centros de cuidados de larga estancia

(Rodríguez-Baño, 2010). En la cohorte española, las bacteriemias de origen urinario supusieron el 58%, seguidas de las de origen intraabdominal (26%). La mortalidad al día 14 fue del 17% (Rodríguez-Baño, 2010).

2.3. Pronóstico de las bacteriemias por BLEE

La cuestión acerca de si la mortalidad de las bacteriemias por E-BLEE es mayor o no que la causada por aislados no productores de BLEE es controvertida. Es importante tener en cuenta la presencia de factores de confusión, que es necesario controlar adecuadamente, así como la potencia estadística de los estudios. Dos meta-análisis publicados han mostrado mayor mortalidad en pacientes con aislados BLEE, pero ambos llaman la atención sobre las limitaciones de los trabajos incluidos que no les permite calcular una mortalidad ajustada a infección por BLEE. En el caso del estudio de Schwaber *et al.* sólo 1 de los 16 estudios incluidos comunicó los resultados del análisis multivariante asociado a mortalidad comparativa entre aislados BLEE y no BLEE (Schwaber, 2007). En el caso del meta-análisis de Rottier *et al.*, las limitaciones pasaban por la heterogeneidad de los estudios incluidos y la población estudiada (Rottier, 2012).

Si existiera una asociación entre la producción de BLEE con peores resultados clínicos, ésta podría ser debida o a mayor virulencia de los microorganismos productores o a problemas en el tratamiento. En general no hay estudios que permitan afirmar que las cepas productoras de BLEE sean más virulentas; además, no se ha encontrado que la existencia de factores de virulencia para causar infección extraintestinal en *E. coli* se asocie con un peor pronóstico (Lavigne, 2006). En cuanto al tratamiento, los pacientes con cepas productoras de BLEE sí pueden tener mayor probabilidad de recibir un tratamiento empírico inapropiado ya que cuando se prescribe este tratamiento antibiótico puede no pensarse en la posibilidad de que la etiología sea un microorganismo multirresistente. Este hecho ha sido estudiado en un meta-análisis por Schwaber y Carmeli. Ellos encontraron que la producción de BLEE se asoció con un retraso en la terapia antibiótica efectiva (Schwaber, 2007), por lo que éste parece ser el factor fundamental asociado al peor pronóstico.

2.4. Variables predictoras del pronóstico en las bacteriemias por E-BLEE

En un estudio sobre bacteriemias de cualquier etiología se encontró que un mayor índice de Charlson o de Pitt, la neutropenia, determinados orígenes de la bacteriemia como aquellos distintos del urinario, biliar o catéter, etiologías distintas a *E. coli*, *Klebsiella* spp. o *Staphylococcus* coagulasa negativa, la presentación con sepsis grave o shock séptico y el tratamiento empírico inadecuado se asociaron con un incremento de la mortalidad al día 14 (Retamar, 2012).

En un estudio realizado por Rodríguez Baño *et al.* en bacteriemias de origen nosocomial por *E. coli* BLEE se demostró que el índice de Pitt >1, el índice de Charlson >2, el origen de la bacteriemia de alto riesgo (infección intrabdominal, infección respiratoria e infección de foco desconocido) y la presentación de los síntomas con sepsis grave o shock séptico fueron predictores de la mortalidad al día 14 y al día 30. En este estudio el tratamiento empírico inadecuado no se asoció de forma significativa con la mortalidad (Rodríguez-Baño, 2010). En un estudio más reciente realizado en Corea del Sur se estudiaron 249 episodios de bacteriemias comunitarias por *E. coli* y *Klebsiella* BLEE (Joo, 2017); en este estudio el ingreso en UCI, el origen respiratorio de la infección, enfermedades de base como la cirrosis, la enfermedad renal o enfermedades del tejido conectivo se asociaron a mayor mortalidad el día 30 en el análisis multivariante ajustado por el índice de propensión. En este estudio tampoco se evidenció asociación significativa en cuanto al tratamiento empírico inadecuado y la mortalidad. Sin embargo, la importancia del tratamiento empírico en el pronóstico es un hecho controvertido ya que en otros estudios (Anderson, 2006; Tumbarello, 2007; Peralta, 2007) el tratamiento empírico inadecuado sí se asoció a mayor mortalidad. Estas discrepancias pudieran estar motivadas por las diferentes metodologías empleadas, los tipos de pacientes incluidos y la dificultad a la hora de interpretar el concepto del tratamiento empírico. No hemos encontrado estudios en los que se analizaran las posibles variables predictoras de la respuesta clínica (medida como curación y mejoría) en bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE.

2.5. Modelos predictivos de mortalidad

Como hemos mencionado previamente la mortalidad de los pacientes con bacteriemias por BLEE puede ser muy variable por diferentes motivos. Predecir el riesgo de mortalidad de estos pacientes utilizando un sistema de puntuación podría ser útil para estratificarlos según el

riesgo basal que presenten; eventualmente esto podría influir en el manejo clínico de los pacientes, seleccionando aquellos que requieren una vigilancia más intensiva. Además, esta puntuación podría ser utilizada en otros estudios clínicos para investigar la eficacia de las opciones terapéuticas existentes al compararlas con la mortalidad esperada en función de su situación basal. Sin embargo, la generalización de una puntuación predictiva puede ser problemática si ésta sólo se ha estudiado en un solo centro o país teniendo en cuenta las diferencias epidemiológicas que pueden existir (Taconelli, 2007).

No hemos encontrado estudios que hayan desarrollado sistemas de puntuación de riesgo para la mortalidad en bacteriemias por E-BLEE. Los sistemas desarrollados previamente y publicados en la literatura se han realizado para detectar el riesgo de BLEE cuando un paciente ingresa en un hospital (Tumbarello, 2011; Johnson, 2013). Al-Hasan *et al.*, desarrollaron un modelo predictivo de mortalidad en bacteriemias por bacterias Gram negativas en pacientes que recibían un tratamiento empírico adecuado (Al Hasan, 2013); este modelo fue posteriormente validado en pacientes con bacteriemia por *E. coli* o *P. aeruginosa* (AL Hasan, 2014). Debido a que el tratamiento empírico es mucho más frecuentemente inadecuado en cepas BLEE y dado que estas bacteriemias frecuentemente afectan a pacientes con determinadas características, se necesitaría un modelo específico para estas infecciones.

3. Tratamiento de las bacteriemias por E-BLEE

3.1. Introducción general al tratamiento de las infecciones por E-BLEE

El tratamiento de las infecciones por E-BLEE es complejo. Estas bacterias, además de ser resistentes a penicilinas, aztreonam y cefalosporinas de tercera generación (aunque con grados de resistencia variables a estas últimas) suelen ser, con frecuencia también variable, resistentes a quinolonas, trimetoprim-sulfametoxazol y aminoglucósidos, lo que limita sustancialmente las opciones de tratamiento. Esta multirresistencia tiene implicaciones con respecto a la correcta elección de la terapia empírica y dirigida.

Debido al escaso desarrollo de nuevas moléculas antibióticas, en los últimos años se están realizando estudios con moléculas antiguas como fosfomicina o temocilina (no disponible en España), que son activas frente a un porcentaje importante de cepas de E-BLEE, pero sobre las que existe una información limitada acerca de su dosificación y eficacia clínica

en distintos tipos de infección. También se están desarrollando numerosos estudios con combinaciones de antimicrobianos.

3.2. Actividad in vitro de los distintos antimicrobianos en E-BLEE

Existen 2 comités internacionales que realizan recomendaciones sobre la metodología e interpretación de los estudios de sensibilidad de los microorganismos a los diferentes antibióticos in vitro: Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI; EEUU) y European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST; Europa). Ambos comités recomiendan en la actualidad que las enterobacterias sean informadas como sensibles o resistentes a las cefalosporinas tal como resulte tras aplicar los puntos de corte establecidos en sus guías, independientemente de si producen o no BLEE u otros mecanismos de resistencia. Esto es importante porque hasta 2010 se recomendaba informar los aislados productores de BLEE como resistentes a todas las cefalosporinas, independientemente del valor de la concentración mínima inhibitoria (CMI) (CLSI 2011, EUCAST 2010).

Las tasas de resistencia en E-BLEE a distintos antimicrobianos son diferentes en función del área geográfica, y a veces entre hospitales. Recientemente los autores del estudio SMART han publicado los datos de aislados de pacientes con apendicitis aguda desde el 2008 al 2010, incluyendo un total de 1.720 aislados de bacilos Gram negativos de pacientes de 39 países. Fueron productores de BLEE el 16.3% (195), predominando *E. coli* (n=166) y *K. pneumoniae* (n=27). Con respecto a *E. coli* productor de BLEE, amikacina, ertapenem, imipenem, y piperacilina-tazobactam fueron los antibióticos más activos (94.6%, 99.4%, 99.4% y 89.2% respectivamente). En lo que respecta a *K. pneumoniae* productor de BLEE, estos mismos antibióticos fueron los que mostraron mayor frecuencia de actividad aunque con un porcentaje menor que frente a *E. coli* (74%, 81.5%, 88.9% y 33.3% de cepas sensibles, respectivamente) (Lob, 2013). En otra publicación del grupo SMART sobre infecciones intrabdominales por enterobacterias se recogieron 3030 muestras clínicas de las cuales 244 eran E-BLEE. Los antibióticos más activos frente a estas fueron imipenem (100%), ertapenem (99.4%), piperacilina-tazobactam (64.7%) y amikacina (53.5%) en el caso de *E. coli* BLEE (n=173), e imipenem (89.5%), ertapenem (84.2%), amikacina (68.4%) y piperacilina/tazobactam (26.3%) en el caso de *K. pneumoniae* BLEE (n=57). La sensibilidad frente a levofloxacino fue de solo el 26.1% y 42.1% para *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE respectivamente (Hawser, 2012). En un estudio realizado en varios países de la región de Asia/Pacífico, amikacina

(95.1%, 95.8%) e imipenem (94.9%, 92.3%) demostraron las mayores tasas de sensibilidad para aislados de *K. pneumoniae* BLEE en infecciones intrabdominales e ITU respectivamente, mientras que <54% eran sensibles a piperacilina-tazobactam (Karlowsky, 2017).

En España, en otro estudio realizado por el GEIH en 2010 (Díaz, 2010) el 88 y el 100% de las cepas *E. coli* BLEE aisladas fueron sensibles a ceftaxima y cefotetan, respectivamente. Todos los aislados de *E. coli* fueron sensibles a imipenem, meropenem, ertapenem, y tigeciclina. Las combinaciones de β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas (BL/IBL) mostraron una actividad del 88.6% en el caso de piperacilina/tazobactam y del 69.3% en el caso de amoxicilina/ácido clavulánico. Los porcentajes de sensibilidad para los otros antimicrobianos evaluados fueron: amikacina, 98%; gentamicina, 78.3%; tobramicina, 76%; ciprofloxacino, 29.1%; y cotrimoxazol, 36.1%. En este caso, todas las cepas se consideraron resistentes a la cefotaxima, ceftazidima, cefpodoxima, cefepima y aztreonam por utilizarse las recomendaciones antiguas de CLSI. Entre los 162 aislados de *K. pneumoniae* incluidos, sólo 3 eran resistentes a carbapenemas; amikacina y tigeciclina mostraron una buena actividad *in vitro* (Ruiz de Alegría, 2011). En otro estudio español más reciente en el que se recogieron un total de 983 muestras de E-BLEE (*E. coli* y *K. pneumoniae* principalmente) procedentes de 27 centros españoles entre 2004 y 2014 y que formaba parte del estudio TEST, *E. coli* y *Klebsiella* BLEE mostraron las tasas de sensibilidad más altas frente a meropenem (99.4% y 94.4% respectivamente), amikacina (92.4% y 89.8% respectivamente) y tigeciclina (98.9% y 80.5% respectivamente) (Marco, 2016). En 2010 se analizaron 8.869 aislados recogidos en el estudio SMART en España entre 2002 y 2010. *E. coli* y *K. pneumoniae* fueron los dos patógenos más frecuentes. La sensibilidad en *E. coli* fue del 72% a amoxicilina/ácido clavulánico, 75% a piperacilina/tazobactam, 91% a amikacina, y mayor al 95% a carbapenemas. Con respecto a *K. pneumoniae*, el 48% fueron sensibles a amoxicilina/clavulánico, el 39% a piperacilina/tazobactam, el 91% a amikacina y más del 95% a carbapenemas. La interpretación de los puntos de corte se realizó de acuerdo con EUCAST (Cantón R, 2011).

En resumen, las carbapenemas son los fármacos habitualmente más activos frente a E-BLEE, junto con tigeciclina y amikacina. La sensibilidad a BL/IBL es bastante heterogénea entre los distintos países y las distintas especies, aunque es mayor para piperacilina/tazobactam. La gran mayoría de las cepas son resistentes a quinolonas, cotrimoxazol y cefalosporinas.

3.3. Tratamiento antimicrobiano

3.3.1. Carbapenemas

Las carbapenemas se consideran, en general, los fármacos de elección para el tratamiento de las infecciones graves por E-BLEE ya que, como hemos visto, son estables frente a estas enzimas, no presentan efecto inóculo relevante (Pitout, 2010) y se han asociado con menores tasas de fracaso y mejores resultados en algunos estudios observacionales (Paterson, 2006; Rodríguez-Baño, 2006; Endimiani, 2005; Tumbarello, 2007; Paterson, 2004; Endimiani, 2004). Sin embargo, es necesario señalar las importantes limitaciones metodológicas de estos estudios. Dentro de las carbapenemas, la experiencia con ertapenem es más escasa, pero datos recientes sugieren que su eficacia es similar a la de otros fármacos de la familia, aunque con dudas en los pacientes con shock séptico (Gutiérrez-Gutiérrez, 2016); dado que su espectro es menor (no tiene actividad frente a *P. aeruginosa* ni otros bacilos Gram negativos no fermentadores), es una buena opción en la mayoría de los casos. Sin embargo, se han publicado algunos casos anecdóticos de desarrollo de resistencia frente a este carbapenema durante el tratamiento (Szabo, 2006; Elliot, 2006).

Un meta-análisis publicado en 2012 por Vardakas comparando estudios observacionales publicados hasta el momento concluyó que la mortalidad era menor en pacientes tratados con carbapenemas de forma empírica o dirigida en comparación con otros antibióticos como fluoroquinolonas, cefalosporinas y aminoglucósidos; las diferencias no fueron estadísticamente significativas en el caso de los BL/IBL (Vardakas, 2012). Un aspecto importante a resaltar es que la mayoría de los trabajos incluidos en este meta-análisis presentaban limitaciones importantes; además, en varios de ellos no se diferenciaba la eficacia de los fármacos en función de si las E-BLEE eran sensibles o resistentes a los mismos.

En el momento actual, la diseminación de enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) ha planteado la necesidad de buscar nuevas alternativas a las carbapenemas para evitar su uso excesivo.

3.3.2. β -lactámicos/inhibidores de β -lactamasas (BL/IBL)

Como se ha comentado arriba, las BLEE se inhiben por los IBL; sin embargo, han existido dudas sobre su utilización durante años. Si bien es cierto que los microorganismos BLEE pueden ser resistentes a los BL/IBL por la presencia de otros mecanismos de resistencia

distintos a las BLEE (como co-producción de enzimas tipo AmpC u OXA-1, hiperproducción de β -lactamasas y/o cambios en la permeabilidad de la membrana), los motivos por los que se duda de su eficacia frente a cepas sensibles no están claros.

Peterson en 2008 recopiló la experiencia contraída habiendo usado piperacilina/tazobactam para el tratamiento de E-BLEE, concluyendo que podría ser una alternativa eficaz (Peterson, 2008); sin embargo, los estudios incluidos tenían pocos pacientes y eran de baja calidad. Un estudio *post-hoc* de varias cohortes prospectivas comparó de forma observacional la mortalidad y estancia hospitalaria de los pacientes con bacteriemia por *E. coli* BLEE tratados bien de forma empírica o dirigida con BL/IBL o carbapenema, siempre que las cepas fueran sensibles al antibiótico usado. Los resultados sugirieron que amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam son una buena alternativa a las carbapenemas para tratar a los pacientes con bacteriemias por estos microorganismos cuando son sensibles. Es importante resaltar que en ese estudio solo se incluyeron aislados de *E. coli*, que el 70% de las bacteriemias eran de origen urinario o biliar y que la dosis más frecuente de piperacilina/tazobactam fue 4,5 g cada 6 horas (Rodríguez-Baño, 2012). Tamma *et al.* comunicaron mayor mortalidad con piperacilina/tazobactam que con carbapenemas en una cohorte retrospectiva de pacientes con bacteriemia por E-BLEE (mayoritariamente *Klebsiella*) (Tamma, 2015); en esta cohorte se usaron dosis más bajas de piperacilina/tazobactam, y puede existir un sesgo del superviviente dado que los pacientes que se cambiaron de piperacilina/tazobactam a carbapenema (y que probablemente evolucionaron bien) se excluyeron. Se ha publicado en 2016, un estudio retrospectivo internacional de bacteriemias por E-BLEE donde se ha analizado el tratamiento con BL/IBL. Se trata del estudio con mayor número de casos publicado. En este estudio se demuestra de forma consistente que, cuando son activas *in vitro*, los BL/IBL (bien piperacilina/tazobactam o amoxicilina/ácido clavulánico) son tan efectivos como las carbapenemas independientemente del origen de la bacteriemia, la especie y la gravedad (Gutiérrez-Gutiérrez, 2016). Recientemente se ha publicado un estudio observacional para evaluar la utilidad de BL/IBL en pacientes hematológicos con neutropenia y bacteriemia por E-BLEE sugiriendo que los BL/IBL podrían ser fármacos alternativos a las carbapenemas ya que no se han encontrado diferencias significativas en la mortalidad al día 7, 14 y 30 de estos pacientes (Gudiol, 2017). Además, está en marcha un ensayo clínico aleatorizado y controlado para estudiar este mismo objetivo (Harris, 2015) (Clinicaltrials.gov NCT02176122). En una revisión sistemática y meta-análisis publicado en 2017, Muhammed M *et al.* analizaron 14 estudios de pacientes adultos con

bacteriemias por E-BLEE tratados con carbapenemas vs BL/IBL de manera empírica, los autores concluyen que no encontraron diferencias significativas en la mortalidad de estos pacientes, principalmente en los pacientes con infecciones por *E. coli* (Muhammed, 2017).

Cuando miramos concretamente amoxicilina/ácido clavulánico encontramos que un porcentaje importante de aislados de *E. coli* BLEE muestran resistencia a este antibiótico debido a la presencia de los genes OXA-1, especialmente en los clones ST131 que producen CTX-M-15 (Harris, 2015). En un estudio español de bacteriemias por *E. coli* productor de BLEE, el 35.5% de los productores de enzimas tipo CTX-M-9 eran sensibles a amoxicilina/clavulánico (Rodríguez-Baño, Picón, 2012). Pueden aparecer variantes de los genes que codifican las enzimas BLEE confiriendo resistencia a BL/IBL tras la exposición *in vitro* a los inhibidores (Ripoll, 2011). Las bacterias pueden sobreexpresar enzimas no BLEE (como TEM-1) que superan la actividad de IBL porque no hay suficiente inhibidor presente como para contrarrestar eficazmente su actividad (Akhan, 2001). Estos genes pueden ser difíciles de detectar en la práctica habitual y pueden predisponer al fracaso de antibióticos como amoxicilina/clavulánico. Además, el uso de la metodología EUCAST en lugar de CLSI aumenta la probabilidad de informar *E. coli* como resistente a amoxicilina/clavulánico, algo que se ha demostrado asociado a fracaso del tratamiento con amoxicilina/clavulánico (Delgado-Valverde, 2017). Una ventaja de amoxicilina/ácido clavulánico frente a piperacilina/tazobactam es que no presenta efecto inóculo (Harris, 2015).

Capítulo aparte merecen los nuevos IBL, como avibactam. Así, ceftazidima/avibactam y aztreonam/avibactam muestran buena actividad *in vitro* frente a E-BLEE (Mischnik, 2017). Dado que estos compuestos tienen actividad frente a cepas productoras de carbapenemasas tipo KPC, parecerá razonable reservar su uso para estas infecciones, cuando estén disponibles. Por otro lado, ceftolozano/tazobactam, que es activo frente a un alto porcentaje de E-BLEE, también está disponible para su uso clínico. De igual manera, dada su mayor actividad frente a cepas de *P. aeruginosa* multirresistente, parece razonable reservar su uso para estas infecciones (Lucasti, 2014 y 2013; Solomkin, 2015; Mazuski, 2016; Wagenlehner, 2016).

3.3.3. Cefalosporinas

La actividad hidrolítica de las BLEE frente a las cefalosporinas es heterogénea; así, mientras los aislados productores de enzimas tipo SHV y TEM muestran habitualmente una CMI más baja para cefotaxima que para ceftazidima o cefepima, ocurre lo contrario con la

familia CTX-M (Delgado-Valverde, 2013). Sin embargo, con los antiguos puntos de corte (mucho más altos que los actuales) se observó que el fracaso en el tratamiento con cefalosporinas era relativamente frecuente para cepas consideradas como sensibles con dichos puntos de corte (Paterson, 2004), motivo por el cual CLSI y EUCAST recomendaban entonces informar todas las E-BLEE como resistentes a todas las cefalosporinas independientemente de la CMI. Posteriormente, estudios en modelos animales han sugerido que el tratamiento con cefalosporinas podría ser útil siempre y cuando la CMI fuera suficientemente baja como para que pudieran alcanzarse concentraciones superiores a la CMI durante más del 50% del tiempo entre dosis (McGowan, 2008); estos datos motivaron, primero, que CLSI y EUCAST bajaran los puntos de corte de sensibilidad (≤ 1 mg/L para cefotaxima, cefepima y ceftazidima según EUCAST; ≤ 1 , ≤ 2 y ≤ 4 respectivamente para CLSI) y segundo, que se recomendara informar la sensibilidad tal como resultara en función de la CMI independientemente de la producción de BLEE. Esto implica que algunas cepas de E-BLEE ahora deben ser consideradas como sensibles a cefalosporinas, lo que ocurre en un porcentaje no desdeñable de aislados sobre todo usando los criterios de CLSI (Rodríguez-Baño, 2012).

Sin embargo, la información clínica disponible que sustenta que las cefalosporinas pueden ser eficaces es muy limitada. Un estudio prospectivo de cohortes mostró buenos resultados con el uso de ceftazidima en el tratamiento de 22 pacientes con bacteriemias de origen urinario por *E. coli* BLEE, con una CMI de ceftazidima de 8 mg/L (Bin, 2006). Ese mismo año se publicó un estudio, que incluyó 21 pacientes con bacteriemias por *Enterobacter aerogenes* BLEE tratados con cefepima, en el que no se observaron diferencias significativas en el pronóstico en comparación con los tratados con carbapenemas, aunque no se realizó ajuste alguno por factores confusores (Goethert, 2006). Posteriormente, dos estudios de cohortes retrospectivos encontraron una tendencia a mayor mortalidad con cefepime que con carbapenemas, especialmente con aislados con MIC de 2-8 mg/L (Chopra, 2012; Wang, 2016). En otro estudio, la tasa de mortalidad fue mayor cuando la CMI de cefepima era 2-8 mg/dl (Lee, 2012). Esta potencial menor eficacia de las cefalosporinas “activas” en general y de cefepima en particular se ha intentado explicar por el efecto inóculo (Burguess, 2004) y el uso de dosis insuficientes que no permitiría alcanzar el parámetro farmacocinético-farmacodinámico predictor de eficacia (Maglio, 2004).

Hasta que haya más información parecería aconsejable no usar cefalosporinas en infecciones graves o en caso de aislados con CMI >1 mg/L (Tamma, 2017). Sin embargo, podría ser razonable pensar que puedan ser eficaces en ITU frente a cepas con CMI ≤ 1 mg/L

(Delgado-Valverde, 2013), aunque en el caso de que la CMI esté entre 4 y 8 mg/dl se deberían usar dosis elevadas de ceftazidima o cefepima (2 gr cada 8 horas en perfusión prolongada) (Tamma, 2017).

Con respecto a las cefamicinas (cefoxitina, cefotetán, moxalactam, ceftometazol, flomoxef), mantienen actividad frente a E-BLEE dado que las BLEE no hidrolizan estos compuestos, a diferencia de las enzimas AmpC. Tradicionalmente no han sido consideradas como una opción de tratamiento ya que se habían descrito anecdóticamente la selección de mutantes resistentes por pérdida de porinas (Pitout 2010; Paterson, 2005). Un estudio multicéntrico realizado en Japón no pudo encontrar mayor mortalidad en los pacientes con bacteriemias por *E. coli* BLEE tratados con ceftometazol o flomofex frente a carbapenemas (Matsumura, 2015); por el contrario, otros estudios no han podido demostrar la no inferioridad de estos fármacos (Yang, 2012), por lo que se aconseja prudencia para el uso de cefamicinas fuera del ámbito de la infección urinaria no complicada (Tamma, 2017).

Otros β -lactámicos

La temocilina es otro β -lactámico que se mantiene estable frente a la hidrólisis de las BLEE y AmpC, pero no está disponible en muchos países. Aunque la experiencia clínica es limitada algunos datos sugieren que podría ser una opción como fármaco alternativo a carbapenemas (Soubirou, 2015; Balakishnan, 2011).

3.3.4. Fluoroquinolonas

La resistencia a fluoroquinolonas es muy frecuente en los aislados de E-BLEE (Pitout, 2008; Rodríguez-Baño, 2004), lo que impide usarlos como tratamiento empírico si la sospecha de E-BLEE es alta. No obstante, sería interesante conocer si puede ser una buena opción de tratamiento dirigido en el caso de que la cepa sea sensible. En el meta-análisis de Vardakas *et al.*, las fluoroquinolonas se asociaron a mayor mortalidad en comparación con carbapenemas en el tratamiento empírico (RR= 0.34, IC 95%: 0.22–0.52), pero no en el dirigido (RR=0.63, IC 95%: 0.34–1.15) (Vardakas, 2012), aunque no se especifican si las cepas eran sensibles o no. Un estudio realizado en Taiwán que incluía 299 casos de bacteriemia por E-BLEE de los cuales 24 estaban tratados de forma dirigida con quinolonas y 275 con carbapenemas no hubo diferencias en la mortalidad cruda al día 14 ni al día 30. En el análisis multivariante de la mortalidad asociada al día 30 las fluoroquinolonas actuaban como factor

protector con una OR de 0.18 (IC 95% 0.03-0.92) (Lo, 2017). Algunos estudios encontraron una alta tasa de mortalidad en análisis crudos en pacientes tratados con ciprofloxacino cuando las CMI eran 0.5-1 mg/L (Endimiani, 2007; Tumbarello 2007). Es importante señalar que EUCAST considera sensibles solo las cepas con CMI a ciprofloxacino ≤ 0.25 mg/L (EUCAST, 2017), mientras que el punto de corte para CLSI es ≤ 1 mg/L. La potencial eficacia de estos fármacos frente a E-BLEE sensibles es, por tanto, un tema que requiere más estudios.

3.3.5. Aminoglucósidos

La resistencia a aminoglucósidos es heterogénea en las E-BLEE. En general, amikacina mantiene buena actividad frente a un alto porcentaje de aislados, aunque la producción de la enzima AAC(6')-IB-CR en aislados de *E. coli* ST131 productores de CTX-M-15 es frecuente.

El uso de los aminoglucósidos disminuyó significativamente con la llegada de las cefalosporinas, carbapenemas y quinolonas, dada la mayor toxicidad (renal y ótica) de aquellos. La eficacia clínica de los aminoglucósidos se considera similar a la del resto de fármacos en infecciones urinarias, y algo inferior en otras infecciones (Vidal, 2007). En cualquier caso, en la situación actual, se plantea la pregunta de si el uso empírico de un aminoglucósido puede ser una opción alternativa a carbapenemas en determinadas infecciones cuando se sospecha E-BLEE.

Aunque no es de esperar que la eficacia sea diferente a la conocida en cepas no BLEE, la experiencia clínica publicada en E-BLEE es muy limitada. En un estudio retrospectivo de 44 pacientes con bacteriemia debida a *K. pneumoniae* de BLEE, 2 de 4 pacientes que recibieron un aminoglucósido activo en monoterapia fallecieron (Kim, 2002). Otros dos pacientes recibieron aminoglucósidos en monoterapia en una serie retrospectiva de 35 episodios de bacteriemia causados por *K. pneumoniae* productora de TEM. A pesar de que los aislamientos no eran sensibles, ambos pacientes respondieron (Endimiani, 2004). Gudiol *et al.* observaron que los aminoglucósidos combinados con BL/IBL mostraron tasas de mortalidad similares a las carbapenemas como tratamiento empírico en bacteriemias por *E. coli* BLEE entre los pacientes con cáncer, aunque los resultados fueron aún mejores al observar específicamente a pacientes con bacteriemia de origen urinario (Gudiol, 2010). Es evidente que hacen falta estudios que evalúen la utilidad de los aminoglucósidos en el tratamiento de E-BLEE.

Plazomicina es un nuevo aminoglucósido que es activo frente a E-BLEE en modelos in vitro (Endimiani, 2009) y en modelos animales (Reyes, 2011), estando actualmente en desarrollo clínico.

3.3.6. Otros antimicrobianos

Fosfomicina

Fosfomicina es un antibiótico bactericida que frecuentemente presenta actividad frente a E-BLEE. Así, de Cueto *et al.*, estudiaron 428 cepas de E-BLEE en España, de las que 417 (97.4%) eran sensibles a fosfomicina, con prevalencias de resistencia del 0,3% en *E. coli* y del 7,2% en *K. pneumoniae* (de Cueto, 2006). Sin embargo, la resistencia en cepas de *E. coli* ST131 en España es más elevada (Oteo, 2009). La formulación oral de fosfomicina trometamol se ha demostrado útil para el tratamiento de cistitis no complicadas en general (Falagas, 2010), y por E-BLEE en particular (Rodríguez-Baño, 2008; Senol, 2010), por lo que se considera una buena opción para estas infecciones. Sin embargo, la experiencia con fosfomicina sódica intravenosa es muy limitada. En la actualidad se están desarrollando dos ensayos aleatorizados, uno en ITU complicada y en comparación con piperacilina/tazobactam, y otro en ITU bacteriémica por *E. coli* multirresistente en comparación con meropenem o ceftriaxona (estudio FOREST) (Rosso-Fernández, 2015).

Tigeciclina

Tigeciclina es un antibiótico bacteriostático que mantiene actividad frente a un alto porcentaje de E-BLEE (Morosini, 2006; Pitout, 2008). No es activo frente a *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp. ni *Morganella* spp. En una revisión sistemática de Kelesidis *et al.*, en 2008, tigeciclina fue microbiológicamente activa contra la mayoría de aislados de *E. coli* (99% de 1936), incluyendo los productores de BLEE, y la gran mayoría de aislados de *Klebsiella* spp (72.3% de 2184) (Kelesidis, 2008). Fuera del tratamiento de E-BLEE, el uso de tigeciclina se ha asociado con peores resultados clínicos que los comparadores en distintos meta-análisis (Tasina, 2011; Yahav, 2011) por lo que se recomienda su uso solo ante falta de otras alternativas. En base a los datos de 4 estudios (Vasilev, 2008; Poulakou, 2009; Curcio, 2008; Eckmann, 2011), la guía terapéutica SEIMC del 2015 recomienda utilizar tigeciclina combinada con otros fármacos para el tratamiento de

infecciones graves por BLEE como alternativa a las carbapenemas cuando la CMI a tigeciclina sea ≤ 1 mg/L, recomendándose aumentar la dosis en casos de CMI de 2 mg/L, de sepsis grave o neumonía nosocomial. En estos estudios la tasa de respuesta clínica varió del 68% al 81%. La tasa más baja de respuesta se observó en pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica (Freire, 2010).

En resumen, la información clínica disponible para el uso de antimicrobianos distintos a las carbapenemas en infecciones invasivas por E-BLEE es limitada, salvo para los BL/IBL, por lo que son necesarios estudios que proporcionen información de utilidad para la toma de decisiones en protocolos de tratamientos empíricos y en tratamientos dirigidos.

JUSTIFICACIÓN

En los últimos años las E-BLEE se han convertido en causa frecuente de infecciones invasivas tanto en la comunidad como en los hospitales. Es necesario conocer qué variables afectan al pronóstico de estos pacientes para su adecuado manejo clínico y, en la medida de lo posible, cuantificar su influencia. Así, desarrollar un modelo predictivo de mortalidad en el momento del diagnóstico de la bacteriemia por E-BLEE podría ser muy útil para valorar en qué pacientes debe realizarse un manejo más agresivo, así como para estimar la mortalidad esperada en una cohorte y valorar la potencial eficacia de un tratamiento específico.

Dado que las carbapenemas son considerados los fármacos de elección para estas infecciones, se ha producido un aumento importante en su uso. Sin embargo, la rápida diseminación de las enterobacterias resistentes a carbapenemas, considerado un problema de salud pública mundial, obliga a buscar alternativas a las carbapenemas. Es preciso evaluar el impacto de fármacos distintos a carbapenemas en el pronóstico de estos pacientes mediante estudios observacionales (dado que es poco probable que se realicen ensayos aleatorizados).

Un porcentaje variable de E-BLEE son sensibles a otros antibióticos. Si bien existe bastante información sobre la utilidad de los BL/IBL en el tratamiento de estos patógenos, la información en otros antimicrobianos, como aminoglucósidos, quinolonas o cefalosporinas es muy escasa, y los pocos estudios disponibles son en general de baja calidad. Conocer la potencial eficacia de estos fármacos en distintas situaciones podría ayudar a diversificar los fármacos en muchas situaciones clínicas.

HIPÓTESIS Y OBEJTIVOS

1. Hipótesis

- Puede desarrollarse y validarse un modelo altamente predictivo para la mortalidad en pacientes con bacteriemia por E-BLEE en el momento de la confirmación de la etiología de la bacteriemia.
- El tratamiento empírico de las bacteriemias por E-BLEE con fármacos activos in vitro distintos a las carbapenemas y BL/IBL se asocia con mayor mortalidad y tasa de fracaso que el realizado con carbapenemas.

2. Objetivos

- Desarrollar y validar un modelo predictivo fiable de mortalidad en el día 30 para los pacientes con bacteriemia por E-BLEE, en el momento del diagnóstico de la bacteriemia.
- Comparar el pronóstico (mortalidad, curación y estancia hospitalaria) de los pacientes con bacteriemia por E-BLEE en función de si el tratamiento empírico se ha realizado con carbapenemas o con otros fármacos activos (no carbapenemas ni BL/IBL).

RESULTADOS

1. Development and validation of the INCREMENT-ESBL predictive score for mortality in patients with bloodstream infections due to extended spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae.

Autores: Palacios-Baena ZR, Gutiérrez-Gutiérrez B, De Cueto M, Viale P, Venditti M, Hernández-Torres A, Oliver A, Martínez-Martínez L, Calbo E, Pintado V, Gasch O, Almirante B, Antonio Lepe J, Pitout J, Akova M, Peña-Miralles C, Schwaber MJ, Tumbarello M, Tacconelli E, Origüen J, Prim N, Bou G, Giamarellou H, Bermejo J, Hamprecht A, Pérez F, Almela M, Lowman W, Hsueh PR, Navarro-San Francisco C, Torre-Cisneros J, Carmeli Y, Bonomo RA, Paterson DL, Pascual Á, Rodríguez-Baño J; REIPI/ESGBIS/INCREMENT Group. *J Antimicrob Chemother.* 2017 Mar 1;72(3):906-913. DOI: 10.1093/jac/dkw513.

2. Empiric Therapy with Carbapenem-Sparing Regimens for Bloodstream Infections due to Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Results from the INCREMENT Cohort.

Autores: Palacios-Baena ZR, Gutiérrez-Gutiérrez B, Calbo E, Almirante B, Viale P, Oliver A, Cantón R, Gasch O, Martínez-Martínez L, Pitout J, Akova M, Peña C, Molina Gil-Bermejo J, Hernández A, Venditti M, Prim N, Bou G, Tacconelli E, Tumbarello M, Hamprecht A, Giamarellou H, Almela M, Pérez F, Schwaber MJ, Bermejo J, Lowman W, Hsueh PR, Paño-Pardo JR, de la Torre-Cisneros J, Souli M, Bonomo RA, Carmeli Y, Paterson DL, Pascual A, Rodríguez-Baño J on behalf of REIPI/ESGBIS/INCREMENT Group. *Clin Infect Dis.* 2017 August 19. <https://doi.org/10.1093/cid/cix606>.

3. Resumen global de los resultados

3.1. Desarrollo y validación del sistema de puntuación predictivo de mortalidad “INCREMENT-ESBL” en pacientes con bacteriemia por E-BLEE

La cohorte INCREMENT incluyó un total de 1004 pacientes con bacteriemia por E-BLEE. Del total de pacientes, 54 fueron excluidos, de los cuales 53 murieron en las primeras 48 horas y 1 presentaba ausencia de datos importantes para el análisis. Finalmente se incluyeron 950 casos. De ellos 622 se asignaron de manera aleatoria a una cohorte de derivación donde se hicieron todos los análisis y el resto se asignó a la cohorte de validación que posteriormente serviría para corroborar los datos extraídos de la cohorte de derivación. Se caracterizó el tipo de BLEE en el 35% de los casos incluidos, siendo CTX-M la familia predominante (79%).

No hubo diferencias en cuanto a características basales entre la cohorte de derivación y validación (Tabla 1). La mayoría de las bacteriemias eran de origen urinario (44%) seguido del origen desconocido (17%) y biliar (10%). El microorganismo predominante fue *E. coli* (70%) seguido de *K. pneumoniae* (21%) y *Enterobacter cloacae* (6%). La mediana del índice de Charlson fue 2, y la de la puntuación de Pitt fue 1. El 49% de los pacientes tenían comorbilidades previas clasificadas según el McCabe como últimamente y rápidamente fatales. El 36% de los pacientes presentaron datos de sepsis grave y/o shock séptico. El 54% y el 81% recibieron antibioterapia empírica y dirigida adecuada, respectivamente. La mortalidad cruda al día 30 fue del 18% en la cohorte de derivación.

Tras la dicotomización de las variables mediante CART se realizó el análisis univariante de los factores asociados a la mortalidad en la cohorte de derivación (Tabla 2). En este análisis las variables asociadas con un aumento significativo de la mortalidad fueron: edad > 50 años (OR 1.87, IC 95% 0.99-3.55; p=0.05), la infección por *Klebsiella* spp (OR 2.79, IC 95% 1.8-4.33; p<0.001), la adquisición nosocomial (OR 2.03, IC 95% 1.34-3.08; p= 0.001) el origen de la bacteriemia distinto de la ITU (OR 3.68, IC 95% 2.27-5.97; p <0.001), el índice de Charlson ≥ 2 (OR 3.93, IC 95% 2.25-6.86; p <0.001), la clasificación de las enfermedades de base según McCabe en últimamente y rápidamente fatal (OR 4.08, IC 95% 2.57-6.47; p<0.001), el índice de Pitt >3 (OR 7.23, IC 95% 4.57-11.44; p <0.001), la presentación como sepsis grave y shock séptico (OR 7.50, IC 95% 4.73-11.87; p <0.001) y el tratamiento dirigido

inapropiado, es decir, el que se inició tras más de 4 días del diagnóstico de la bacteriemia (OR 3.22, IC 95% 2.0–5.0; $p < 0.001$). Por otro lado, la infección por *E. coli* fue un factor protector de mortalidad (OR 0.35, IC 95% 0.23–0.53; $p < 0.001$). En el análisis multivariante final las variables que se asociaron de manera significativa e independiente con la mortalidad al día 30 fueron: edad > 50 años (OR 2.63, IC 95% 1.18–5.85; $p = 0.01$), la infección por *Klebsiella* spp (OR 2.08, IC 95% 1.21–3.58; $p = 0.008$), el origen distinto de ITU (OR 3.60, IC 95% 2.02–6.44; $p < 0.001$), la enfermedad de base últimamente y rápidamente fatal según el McCabe (OR 3.91, IC 95% 2.24–6.80; $p < 0.001$), el índice de Pitt > 3 (OR 3.04, IC 95% 1.69–5.47; $p < 0.001$), la presentación como sepsis grave o shock séptico (OR 4.80, IC 95% 2.72–8.46; $p < 0.001$) y el tratamiento dirigido inapropiado (OR 2.47, IC 95% 1.58–4.63; $p = 0.002$).

A cada una de las variables asociadas a la mortalidad en el análisis multivariante se le asignó una puntuación en función de su coeficiente β , calculados a partir de la división de su coeficiente β por la mitad del coeficiente más pequeño de todas las variables, y redondeando a la unidad más próxima. Así, a la edad > 50 se asignó 3 puntos, a la infección por *Klebsiella* spp. 2 puntos, al origen distinto de ITU 3 puntos, a una enfermedad de base fatal 4 puntos, a la presentación con sepsis grave o shock séptico 4 puntos y al tratamiento dirigido inapropiado 2 puntos. La suma de todos los puntos en cada paciente podía estar comprendida entre 0 y 21. El área bajo la curva (ABC) ROC del modelo multivariante fue de 0.87 (95% CI: 0.83–0.90), y el valor de P para el test de Hosmer-Lemeshow de 0.93 (Figura 1).

Calculamos la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, precisión y razones de probabilidad (*likelihood ratio*) positiva y negativa para cada uno de los puntos de corte que ofrece la curva ROC (Tabla 3). Seleccionamos un punto de corte ≥ 7 , el cual muestra una alta sensibilidad (97%) para la mortalidad, así como un alto valor predictivo negativo (98%), aunque con especificidad y valor predictivo positivo bajos (39% y 27%, respectivamente). Sin embargo, un punto de corte en ≥ 14 presenta una alta especificidad (89%) y valor predictivo negativo (90%) pero un valor predictivo positivo de solo 54%. Puntos de cortes más altos mejoran la especificidad y el valor predictivo positivo, a expensas de una menor sensibilidad y menor valor predictivo negativo. La mejor precisión se obtuvo con un punto de corte ≥ 15 ; sin embargo, debe tenerse en cuenta que si se consideran valores de puntuación muy altos (o muy bajos), la proporción de pacientes en estos grupos es menor.

Posteriormente se le aplicó esta puntuación a cada uno de los pacientes de la cohorte de derivación, en el que éste modelo presentó un ABC ROC de 0.85 (95%CI: 0.82–0.89) con un valor de P en el test de Hosmer-Lemeshow de 0.44. Igualmente, los puntos del sistema de

puntuación se aplicaron sobre la cohorte de validación. En este caso el ABC del modelo fue de 0.82 (95% CI: 0.76–0.88) y el valor de P para el test de Hosmer-Lemeshow de 0.96. Igualmente se calcularon los mismos indicadores en la cohorte de validación. Los resultados para los puntos de corte arriba comentados fueron similares.

Posteriormente se identificaron 2 grupos de riesgo de mortalidad, con alto y otro de bajo riesgo. El punto de corte seleccionado fue 11. En pacientes con ≥ 11 puntos, las tasas de mortalidad fueron del 45.9% y 34.8% en las cohortes de derivación y validación respectivamente. En los pacientes con < 11 puntos la tasa de mortalidad fue del 5.6% y 5.4% respectivamente. En el grupo de riesgo bajo se encuentran aproximadamente 2/3 de los pacientes de las cohortes de derivación y validación [424/622 (68%) en la cohorte de derivación y 219/328 (67%) en la cohorte de validación].

3.2. Tratamiento empírico con regímenes exentos de carbapenemas para pacientes con bacteriemia por Enterobacteriaceae productoras de β -lactamasas de espectro extendido: Resultados de la cohorte INCREMENT

Del total de 1004 pacientes con bacteriemia por E-BLEE de la cohorte INCREMENT, 249 recibieron tratamiento empírico con una carbapenema activa y 86 con otro fármaco activo (OFA) distinto de carbapenemas o BL/IBL. La BLEE se caracterizó en el 34% de los aislados, predominando CTX-M-15.

Las características basales de los pacientes se recogen en la tabla 1. Se encontraron diferencias significativas entre el grupo de pacientes tratados con carbapenemas u OFA en la frecuencia de distribución por sexo, predominando los varones en el grupo de carbapenemas, y en el tratamiento dirigido, siendo las carbapenemas el tratamiento dirigido más frecuente en el grupo de pacientes que habían recibido carbapenemas como tratamiento empírico, y OFA en el grupo que recibió OFA como tratamiento empírico ($p < 0.001$) destacando que el 50% de los pacientes que recibieron OFA como tratamiento empírico se cambiaron a carbapenemas como tratamiento dirigido. Los fármacos más frecuentemente usados como OFA fueron aminoglucósidos ($n=43$) y fluoroquinolonas ($n=20$).

La mortalidad cruda de los pacientes tratados con carbapenemas fue del 20.5%, y en los tratados con OFA del 18.6%. El análisis mediante curvas de Kaplan-Meier no mostró diferencias significativas en cuanto a la mortalidad cruda entre ambos grupos (test de log-rank:

0.69) (figura 2). En el análisis multivariante de las variables asociadas a la mortalidad en el día 30, las variables asociadas de forma significativa e independiente fueron la edad >50 años (OR 4.25, IC 95% 1.69-10.76; $p=0.002$), el origen de la bacteriemia desconocido (HR 3.14, IC 95% 1.53-6.43; $p=0.002$) o el distinto a biliar/ITU/desconocido (HR 2.91, IC 95% 1.54-5.52; $p=0.001$), el índice de Charlson ≥ 2 (HR 2.91, IC 95% 1.31-6.45; $p=0.008$) y el índice de Pitt >3 (HR 3.24, IC 95% 1.94-6.03; $p<0.001$), considerando en el análisis el efecto centro y el índice de propensión (*propensity score*) para haber recibido tratamiento con OFA. El tratamiento con OFA no se asoció de forma significativa con la mortalidad (HR 0.75, IC 95% 0.38-1.48; $p=0.42$) ni cuando se realizó el mismo modelo pero excluyendo el *propensity score* (HR 0.92, IC 95% 0.52-1.65; $p=0.79$). Tanto en los análisis realizados por subgrupos como en los de sensibilidad, el tratamiento con OFA no se asoció de manera significativa en ninguno de ellos con la mortalidad al día 30 (Tabla 4).

Realizamos un análisis estratificado de acuerdo al sistema de puntuación INCREMENT-ESBL en el estrato de bajo y alto riesgo de mortalidad, usando curvas de Kaplan-Meier; no encontramos diferencias significativas en la mortalidad para el tratamiento empírico con carbapenemas u OFA en ninguno de los dos estratos (test long-rank: 0.381 y 0.976 respectivamente) (figura 2A, 2B y 2C). Finalmente, emparejamos 120 pacientes en 60 parejas de casos tratados con carbapenemas o con OFA de acuerdo con el *propensity score*. La mortalidad en este grupo de pacientes tampoco fue significativa (HR 0.68, IC 95% 0.31-1.48; $p=0.33$).

El tratamiento empírico con OFA tampoco se asoció de manera significativa con el fracaso clínico el día 14 desde el inicio de la bacteriemia (OR ajustada 0.62, IC 95% 0.29-1.36; $p=0.24$) (datos en tablas suplementarias). La mediana de estancia hospitalaria en los pacientes supervivientes al alta fue de 16 días para los pacientes tratados con carbapenemas y 14 para los tratados con OFA ($p=0.86$).

Se realizó un análisis específico de los pacientes tratados con aminoglucósidos; el 34% de ellos tenían bacteriemias de origen urinario, y *E. coli* fue el microorganismo más frecuentemente aislado (68%). El tratamiento con aminoglucósidos tuvo una duración mediana 4 días; casi el 60% de estos pacientes recibió tratamiento dirigido con carbapenemas tras obtener el resultado de la sensibilidad. La mortalidad fue del 22%, siendo la diferencia con la del grupo de carbapenemas del +1.5%. El tratamiento con aminoglucósidos no mostró asociación significativa con la mortalidad, en relación al tratamiento con carbapenemas (HR ajustado 1.05, IC 95% 0.51-2.16; $p=0.88$).

DISCUSIÓN

1. Desarrollo y validación del sistema de puntuación predictivo de mortalidad “INCREMENT-ESBL” en pacientes con bacteriemia por Enterobacteriaceae productoras de β -lactamasas de espectro extendido

La mortalidad de los pacientes con bacteriemia por E-BLEE muestra un rango de entre el 8.1% y 43.6% en una revisión sistemática de 28 estudios realizada por Treçarichi *et al.*; esta variabilidad se debe probablemente a las diferencias en las poblaciones estudiadas. Distintos estudios han identificado variables asociadas con la mortalidad en estos pacientes; sin embargo, en nuestro conocimiento, ningún estudio previo había desarrollado un sistema de puntuación predictivo para la mortalidad de los pacientes.

En este trabajo hemos desarrollado un sistema pronóstico de puntuación para la mortalidad en el día 30 en pacientes con bacteriemia por E-BLEE. Algunas fortalezas de este estudio son que los datos proceden de una base de datos que incluye un elevado número de pacientes procedentes de distintos países, lo que aporta una importante validez externa, y que el sistema ha sido validado dentro de la misma cohorte, aunque habría que hacer otros estudios similares para poder validarlo en ellos.

El modelo presenta una buena capacidad predictiva para la mortalidad tanto en la cohorte de validación como en la de derivación. Es importante resaltar que fue muy útil para detectar pacientes de alto riesgo (≥ 11 puntos; mortalidad del 34,8 al 45,9% en ambas cohortes) y bajo riesgo de mortalidad (< 11 puntos; mortalidad 5,4 a 5,6%). Este sistema puede ser útil principalmente a la hora de calcular la tasa de mortalidad esperada en futuros estudios clínicos no comparativos en los que pueda evaluarse la eficacia de antiguas y nuevas moléculas antimicrobianas, y en el caso de estudios comparativos para comprobar si la mortalidad en el grupo de tratamiento estándar es la esperada. Asimismo, puede ayudar a definir la población de mayor interés para evaluar nuevos fármacos, dado que cualquier fármaco experimental podría tener mayores posibilidades de mostrar no inferioridad para la mortalidad respecto al fármaco de referencia en un ensayo aleatorizado si el tamaño muestral se calcula sin considerar el riesgo real de la misma en la población que va a incluirse; no es raro, de hecho, que en los ensayos aleatorizados la población de bajo riesgo esté sobrerrepresentada. Así, el sistema de puntuación puede utilizarse para seleccionar los pacientes con el riesgo previsto para la estimación del pronóstico utilizada para el cálculo del tamaño muestral.

Con respecto a la utilidad clínica, este sistema permite identificar pacientes de mayor riesgo que pueden requerir mayor vigilancia, cuidados intensivos y/o un manejo más agresivo. Sin embargo, la utilidad clínica del sistema de puntuación como guía para la toma de decisiones específicas debe evaluarse en estudios *ad hoc*. Recientemente, un sistema de puntuación similar obtenido en el contexto del mismo proyecto INCREMENT pero en pacientes con bacteriemia por EPC (Gutiérrez-Gutiérrez, 2016) se ha mostrado útil para decidir qué pacientes requieren tratamiento antimicrobiano combinado (Gutiérrez-Gutiérrez, 2017). Sería interesante realizar estudios que evaluaran si los pacientes con puntuación elevada se benefician de ser ingresados en cuidados intensivos de forma precoz.

El sistema de puntuación se ha desarrollado para que pueda ser calculado en el momento en que se dispone de los resultados de la sensibilidad a los distintos antimicrobianos, que habitualmente ocurre a las 48 horas de la toma de los hemocultivos, y que es habitualmente un momento clave en la evaluación clínica y para la toma de decisiones en pacientes con bacteriemia. Este sistema incluye variables sencillas de recoger a pie de cama y que están disponibles en todos los pacientes: edad, *Klebsiella* spp. como agente etiológico, el origen de la bacteriemia distinto del urinario, padecer una enfermedad crónica últimamente o rápidamente fatal, el índice de Pitt, la presentación como sepsis grave o shock séptico y recibir un tratamiento dirigido precoz (el mismo día de la evaluación) inadecuado (es decir, sin fármacos activos *in vitro*). De esta manera, aunque los sistemas de puntuación tienen habitualmente el problema de su baja utilización bien por su complejidad en la captación de los datos o en su cálculo, en este caso, el sistema es sencillo y fácilmente incluíble en sistemas automatizados de cálculo, lo que permitiría facilitar su uso en la práctica clínica.

Como en todo sistema de puntuación, la decisión sobre qué punto de corte predictor del evento a predecir (en este caso, mortalidad) seleccionar es una cuestión compleja y, en muchas ocasiones, puede ser necesario fijar distintos puntos de corte en función de si precisa un alto valor predictivo positivo o negativo. En nuestro caso, los valores predictivos negativos son bastante elevados en general, y para puntos de corte por debajo de 10-11 están en el 95 o 96%; esto permite identificar pacientes con un claro menor riesgo de mortalidad con un alto margen de seguridad. En cuanto a los valores predictivos positivos, no son tan altos. Dado que los valores predictivos dependen de la prevalencia del evento (aquí, mortalidad), para disponer de una información del valor diagnóstico del sistema de puntuación no sesgada por esta, se calcularon las razones de probabilidad positiva y negativa (Grimes, 2005; Bai, 2016). Una razón de probabilidad positiva de 10 o mayor es muy indicativa de que un resultado positivo

resulte diagnóstico, es decir, en nuestro caso, de que ocurra la muerte (Grimes, 2005). Estos valores se dan para valores de puntuación ≥ 15 en nuestro sistema. Por otra parte, razones de probabilidad negativas menores a 0,1 indican que la enfermedad puede descartarse con alta seguridad (en este caso, la muerte); esto ocurre para puntos de corte ≤ 7 . Este análisis refuerza la selección de estos dos puntos de corte, para identificar pacientes de bajo y alto riesgo de mortalidad; entre uno y otro, como ocurre habitualmente, existe una zona de mayor incertidumbre.

Al-Hasan *et al.* publicaron en 2013 un sistema de predicción de mortalidad en pacientes con bacteriemias por Gram negativos en general. Es importante resaltar que en este estudio se incluyeron solamente pacientes que habían recibido un tratamiento empírico adecuado, por lo que no es aplicable a pacientes tratados inicialmente con fármacos no activos. Un total de 683 pacientes fueron seleccionados. El análisis multivariante de la mortalidad por todas las causas al día 28 demostró que tener una enfermedad neoplásica, la cirrosis hepática, el origen de la bacteriemia diferente del urinario o relacionado con catéter venoso y el índice de Pitt estaban relacionados con la mortalidad. El estadístico C (un parámetro de significado similar al ABC de predicción) mostró una concordancia de 0.81 para el modelo ajustado (Al-Hasan, 2013). Creemos que este sistema de puntuación no es utilizable en pacientes con bacteriemia por E-BLEE debido a distintos factores. En primer lugar, como hemos visto, el cálculo de este sistema de puntuación solo sería extrapolable a pacientes con bacteriemias por Gram negativos que han recibido un tratamiento empírico activo; sin embargo, la probabilidad de encontrar un tratamiento empírico activo en pacientes con bacteriemias por E-BLEE es mucho menor en comparación con las bacteriemias por Gram negativos en general (Schwaber, 2007). En segundo lugar, las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con bacteriemia por E-BLEE son diferentes que la de los pacientes con enterobacterias no productoras de BLEE (Ben-Ami, 2009). Finalmente, en el sistema de puntuación de Al-Hasan *et al.* se incluyen infecciones por *P. aeruginosa* y otros Gram negativos no fermentadores, cuya epidemiología e implicaciones clínicas son también distintas a las de las enterobacterias.

Gutiérrez-Gutiérrez *et al.* han desarrollado un sistema de puntuación predictor de mortalidad al día 14 y al día 30 en pacientes con bacteriemias por EPC. Este sistema incluye la presentación como sepsis grave/shock séptico, el índice de Pitt ≥ 6 , el índice Charlson ≥ 2 , el origen de la bacteriemia distinto del urinario o del biliar y el tratamiento dirigido precoz inadecuado entre sus variables predictoras de mortalidad. Este sistema también demostró una buena capacidad predictiva tanto en la cohorte de derivación como en la cohorte de validación

(ABC de 0,8 en ambos). Por tanto, algunas variables son comunes a los sistemas de predicción desarrollados para EPC y E-BLEE, pero hay también algunas diferencias. Esto se debe a que las características de las poblaciones son algo distintas. Así, en las bacteriemias por EPC predominan las causadas por *Klebsiella* spp., de adquisición nosocomial y de origen distinto del urinario y el biliar (intrabdominal, respiratorio, etc.), mientras que en el caso de E-BLEE predomina *E. coli*, el origen urinario y la adquisición comunitaria (Gutiérrez-Gutiérrez, 2016).

La mayoría de las variables incluidas en nuestro sistema de puntuación ya se han encontrado en otros estudios previos como predictoras de mortalidad. En el caso de la gravedad de las enfermedades crónicas, tanto la clasificación de McCabe como el índice de Charlson miden el mismo concepto, el riesgo de muerte relacionado con las comorbilidades basales del paciente. Sin embargo, aunque la clasificación de McCabe pudiera ser más subjetiva que el índice de Charlson, dicotomizar esta variable en últimamente fatal y rápidamente fatal frente a no fatal de alguna manera limita su subjetividad, motivo por el que, junto con su potente capacidad de predicción, decidimos mantenerla en el modelo multivariante final, al ser más predictiva que el índice de Charlson. El índice de Pitt es un marcador de la gravedad aguda del paciente; esto es relevante dado que los pacientes pueden no tener enfermedades crónicas pero estar muy graves antes de la bacteriemia (por ejemplo, por un traumatismo o por otra infección aguda); este índice se ha mostrado como un buen predictor de mortalidad en numerosos estudios en bacteriemias (Retamar, 2011 y 2014; Gutiérrez-Gutiérrez, 2016), aunque con distintos puntos de corte; en nuestra cohorte se dicotomizó a los pacientes con índice de Pitt >3 y ≤ 3 en base a su capacidad predictora basado en el análisis CART. Es importante señalar que el índice de Pitt debe medirse idealmente el día antes de la bacteriemia, lo que fácilmente puede hacerse de forma retrospectiva, dado que las variables que incluye están disponibles siempre en la historia clínica. Esto es importante sobre todo si se recoge también la presentación en forma de sepsis grave o shock, que debe hacerse tras el inicio de los síntomas de infección; si no se hace así, ambas variables van a recoger una misma información muy similar, y podrán ser colineales, lo que causaría inestabilidad en el modelo multivariante predictor. En nuestro estudio hemos tenido la precaución de descartar la existencia de colinealidad.

Es resaltable el hecho de que las bacteriemias causadas por *Klebsiella* spp. se asociaran a una mayor mortalidad. Las posibles explicaciones para este hecho serían varias. Por un lado, podría deberse simplemente a que los microorganismos de este género (fundamentalmente los pertenecientes a la especie *K. pneumoniae*, causante de la mayoría de episodios) sean más

virulentos que los aislados de *E. coli*. En este sentido, se han descrito sobre todo en Asia algunos clones hipervirulentos de *K. pneumoniae*, asociadas a cuadros clínicos graves, complicados y asociados con mayor frecuencia a la presencia de abscesos hepáticos (Babouee, 2017; Gu, 2017; Yu, 2017). En este trabajo no pudimos estudiar la clonalidad de los aislados ni la presencia de factores de virulencia, pero el número de casos provenientes de las áreas donde estas cepas han sido predominantemente descritas, Taiwan en este caso, fue de 2 (0.9% del total de casos causados por *Klebsiella* spp.), por lo que nos parece poco probable que la asociación encontrada se deba a la presencia de dichas cepas hipervirulentas que, aunque están presentes en otras áreas, son más frecuentes en países asiáticos. Por otro lado, la mayor mortalidad en los casos causados por *Klebsiella* spp. podría simplemente explicarse por ser un factor subrogado y resumen de determinadas características de estos episodios en comparación con *E. coli*, como son la mayor frecuencia de adquisición nosocomial y potencial mayor gravedad basal de los pacientes, que aún proporcione asociación a pesar de controlar el efecto de la gravedad basal y aguda con la clasificación de McCabe y el índice de Pitt. El impacto pronóstico de otras especies distintas a *Klebsiella* spp. y *E. coli* es menos valorable dada su menor frecuencia.

En cuanto al origen de la bacteriemia como factor pronóstico, es bien conocido que las bacteriemias de origen urinario tienen, en general, mejor pronóstico que las ocasionadas en otros órganos (Retamar, 2012). Esto se debe probablemente a que, salvo en presencia de obstrucción urinaria no resuelta, el propio flujo urinario sirve de drenaje de los microorganismos y a que muchos antimicrobianos habitualmente utilizados alcanzan altas concentraciones urinarias, lo que puede permitirles un cierto grado de acción antibacteriana incluso en el caso de tratarse de aislados no completamente sensibles.

En cuanto al tratamiento dirigido, consideramos para el cálculo del sistema de puntuación solo el administrado precozmente, es decir, el mismo día en que se conoce el resultado de la sensibilidad a los antibióticos; si ese día no se administró ningún fármaco activo se consideró inadecuado. Esto es importante porque, al encontrarse que el tratamiento dirigido precoz inadecuado se asocia con mayor mortalidad, se trata de una variable que modifica la historia natural de la enfermedad y el pronóstico medido ese día, y por tanto es una variable que debe ser considerada. No hemos podido investigar las causas del retraso en la administración de fármacos activos en los pacientes, pero podemos plantear la hipótesis de que estuvieran en relación con la tardanza en conocer la sensibilidad de los aislados, bien por retrasos en la producción del informe microbiológico, por no ser revisado este por los médicos responsables

o por ambos motivos. Esta variable indica que podríamos mejorar la precocidad del tratamiento adecuado, y por tanto el pronóstico de nuestros pacientes, si la información de la sensibilidad se proporciona de manera rápida y asegurándonos que es conocida y bien interpretada por los clínicos responsables, como se ha demostrado en otros estudios realizados en pacientes con bacteriemia por cualquier microorganismo (Bouza, 2004). Para garantizar la administración precoz de antibioterapia adecuada junto con un mejor manejo del foco de la bacteriemia y, eventualmente, con tratamiento de soporte en caso de necesitarse son útiles los programas multidisciplinarios enfocados específicamente al diagnóstico y tratamiento de los pacientes con bacteriemia, en los que la comunicación y colaboración de microbiólogos e infectólogos con intervención activa en la realización de recomendaciones a los médicos responsables de los pacientes tiene impacto en la calidad del manejo de estas infecciones y el pronóstico de los pacientes (Minton, 2008; López-Cortés, 2017). Además, la disponibilidad de técnicas que permitan disponer de la sensibilidad de forma más rápida podría permitir mejorar aún más el pronóstico, si se aplican en el contexto de estos programas de bacteriemia. Un ejemplo en este sentido es que EUCAST está evaluando incorporar a sus recomendaciones la realización de estudios de sensibilidad directamente sobre hemocultivos positivos (López-Cortés, 2017).

En este primer trabajo no hemos profundizado en analizar si algún antimicrobiano específico, administrado precozmente, se asocia con mejor pronóstico que otros; previamente, en esta misma cohorte se comprobó que el uso de BL/IBL no se asoció con mayor mortalidad que el uso de carbapenemas (Gutiérrez-Gutiérrez, 2016), y en el segundo artículo de esta tesis se analizan otros fármacos.

Un aspecto interesante de este análisis es que no hemos podido encontrar relación entre el tratamiento empírico inapropiado y la mortalidad, de manera similar a lo encontrado por autores holandeses en una cohorte de pacientes con bacteriemia por E-BLEE (Frakking, 2013). Sin embargo, otros trabajos sí han encontrado que el tratamiento empírico activo se asocia con menor mortalidad en pacientes con bacteriemia en general (Retamar, 2012), por *E. coli* en particular (Peralta, 2007; Rodríguez-Baño, 2010) y específicamente por E-BLEE en particular (Anderson, 2006; Tumbarello, 2007). La exclusión de pacientes que murieron en las primeras 48 horas, debido a que el pronóstico no podía evaluarse en estos pacientes el día que la sensibilidad estaba disponible, podría haber subestimando la importancia de esta variable. En cualquier caso, este hecho puede adicionalmente explicarse por algunas circunstancias de los pacientes, como es el hecho de la alta frecuencia de bacteriemias de origen urinario.

Entre las limitaciones del estudio, además de algunas señaladas anteriormente, destacamos las siguientes: i) la influencia de determinados factores de confusión puede no haberse conseguido a pesar del uso de técnicas avanzadas para su control; ii) pueden existir variables confusoras que no se han analizado en este estudio, aunque hemos incluido todas las previamente identificadas en otros estudios y aquellas habitualmente consideradas por el sentido clínico; iii) a pesar de que debieron incluirse todos los pacientes consecutivos con bacteriemia por E-BLEE, es posible que esto no fuera así en todos los casos, lo que podría haber ocasionado algún tipo de sesgo de selección, que en cualquier caso consideramos que debe ser de escasa relevancia; iv) aunque los centros participantes son expertos en realizar estudios relacionados con las bacteriemias, la calidad y fiabilidad de los datos puede no ser la misma en todos los centros; de hecho, para intentar corregir este problema se realizó una exhaustiva revisión de los datos incluidos en la base de datos, con emisión de consultas a los centros (*queries*) cuando los datos eran faltantes o no coherentes; v) la validación se ha realizado sobre la misma cohorte y no en una cohorte completamente externa de carácter prospectivo, que es la manera ideal de realizarlo; sin embargo, la selección de la cohorte de validación se realizó de forma aleatoria; vi) finalmente, la caracterización de los aislados BLEE se realizó solo en un subgrupo de pacientes, por lo que su extrapolación a todos los tipos de E-BLEE puede ser dudosa, aunque los datos de los aislados analizados es un reflejo de la epidemiología reciente de estos mecanismos de resistencia.

En cualquier caso, el alto número de casos incluidos de diversos centros y de distintas áreas geográficas, el uso de técnicas adecuadas para el control de la confusión y la adecuada capacidad predictiva del sistema de puntuación encontrada en las cohortes de derivación y validación son fortalezas importantes de este trabajo que resaltan su razonable posibilidad de extrapolabilidad de los resultados

2.Tratamiento empírico con regímenes exentos de carbapenemas para pacientes con bacteriemia por Enterobacteriaceae productoras de β -lactamasas de espectro extendido: Resultados de la cohorte INCREMENT

Este estudio se centró en el análisis del tratamiento empírico con OFA en los pacientes con bacteriemia por E-BLEE. En el mismo no hemos podido demostrar que el tratamiento con

dichos fármacos se asocie con peor pronóstico en términos de mortalidad, fracaso clínico o duración de estancia hospitalaria en comparación con el tratamiento estándar con carbapenemas. Esto no quiere decir que podamos interpretar estos resultados como que hemos demostrado que los OFA son tan efectivos como las carbapenemas, debido a que nuestro estudio puede tener una potencia estadística limitada para encontrar diferencias, si las hay. Sin embargo, se trata de la cohorte de pacientes más numerosa que compara estos tratamientos por lo que, de ser las carbapenemas claramente superiores, hubiéramos esperado al menos una tendencia hacia un peor pronóstico en alguna de las variables resultado evaluadas en los pacientes tratados con OFA, como era nuestra hipótesis de partida. Debido a que en el grupo de pacientes que recibieron tratamiento empírico con OFA predominaban los aminoglucósidos y las fluoroquinolonas, realizamos además análisis específicos en los pacientes tratados con estos fármacos, siendo los resultados de estos análisis consistentes con el resultado de la cohorte global. Es importante destacar que la mitad de los pacientes que recibieron OFA como tratamiento empírico posteriormente recibieron un carbapenema como tratamiento dirigido, a pesar de que OFA era activo en todos los casos, por lo que los resultados solo son aplicables al tratamiento empírico y no al tratamiento completo de la infección.

La diseminación mundial de E-BLEE y el hecho de que las carbapenemas se consideren los fármacos de elección para estos microorganismos ha tenido como consecuencia un importante aumento en el consumo mundial de estos fármacos (Van Duin, 2016). En los últimos años hemos asistido a un aumento muy importante en la incidencia de infecciones por enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores resistentes a carbapenemas; es inevitable pensar que esto podría estar, al menos en parte, en relación con el aumento de consumo de carbapenemas antes reseñado. Esto hace necesario buscar alternativas a las carbapenemas para el tratamiento de las infecciones invasivas por E-BLEE. El problema radica en que las E-BLEE son frecuentemente resistentes a muchas de estas posibles alternativas (Paterson, 2005), pero también es verdad que muchos aislados de E-BLEE son sensibles a algunos fármacos que podrían ser útiles y que durante años se han despreciado como potenciales alternativas terapéuticas.

Los BL/IBL son probablemente los fármacos más estudiados en este sentido. En estudios previos se ha comparado el pronóstico de los pacientes tratados con BL/IBL activos *in vitro* y con carbapenemas, sin encontrarse diferencias significativas en la mortalidad entre ellos, incluyendo estudios específicos multicéntricos de alto tamaño muestral realizados específicamente en *E. coli* (Rodríguez-Baño, 2012) o en E-BLEE en general (Gutiérrez-

Gutiérrez 2016), así como en pacientes neutropénicos (Gudiol, 2017). Aunque algún estudio mostró mejor pronóstico con carbapenemas (Tamma, 2017), un meta-análisis reciente (Muhammed, 2017) encontró también que el tratamiento con BL/IBL muestra resultados similares al tratamiento con carbapenemas. Por este motivo, en este estudio nos hemos centrado en evaluar otros fármacos. Para evitar que el grupo de referencia fuera heterogéneo hemos preferido incluir en el mismo solo a los pacientes tratados con carbapenemas, y no a los tratados con BL/IBL. Sin embargo, para aumentar la precisión de los resultados hemos también incluido estos últimos en el grupo de referencia en uno de los análisis de sensibilidad.

Entre los potenciales fármacos alternativos a las carbapenemas hay que considerar las cefalosporinas y aztreonam, las cefamicinas, la temocilina, las fluoroquinolonas, los aminoglucósidos, el trimetoprim-sulfametoxazol (TMS), la tigeciclina y la fosfomicina. En el caso de las cefalosporinas y el aztreonam, la resistencia se debe a la presencia de la BLEE en sí misma, pero la hidrólisis de estos fármacos es heterogénea en función del tipo específico de BLEE y probablemente de su grado de producción. Los resultados de estudios en modelos animales han sugerido que la actividad de las cefalosporinas frente a estas cepas depende más de que el fármaco alcance un porcentaje determinado de tiempo sobre la CMI entre dosis (alrededor del 50%) que la presencia de la BLEE en sí misma (McGowan, 2008). Con las dosificaciones habituales de estos fármacos, esto solo puede conseguirse en un porcentaje elevado de pacientes si la CMI es ≤ 1 mg/L. Por este motivo EUCAST y CLSI recomiendan desde 2010 informar los aislados de enterobacterias como sensibles o resistentes a cefalosporinas en función exclusivamente de su CMI, independientemente de la producción o no de BLEE. Desde ese momento, EUCAST considera como sensibles a cefotaxima, ceftazidima o cefepime los aislados con CMI ≤ 1 mg/L; CLSI inicialmente recomendó puntos de corte más altos para ceftazidima y cefepime. Sin embargo, algunos estudios mostraron mayor mortalidad en pacientes tratados con cefepime cuando la CMI de este fármaco estaba entre 4 y 8 mg/L (Wang, 2016; Lee, 2013), tras los cuales CLSI modificó el punto de corte de sensibilidad para este fármaco a ≤ 2 mg/L. En el caso de nuestro estudio sólo 9 pacientes fueron tratados con cefalosporinas o aztreonam siendo la cepa sensible según los puntos de corte establecidos, por lo que no podemos obtener conclusiones de ellos; en base a los datos de los estudios disponibles y de nuestros resultados, la eficacia clínica de las cefalosporinas en bacteriemias por E-BLEE sensibles sigue siendo controvertida (Tamma, 2017); creemos que mientras no haya más datos no es aconsejable su uso aunque puede plantearse en pacientes

concretos de bajo riesgo de mortalidad, fundamentalmente en infecciones urinarias, y en todo caso usando dosis altas del fármaco (Tamma 2017).

Asimismo, la eficacia de las cefamicinas, que no se hidrolizan por las BLEE y por tanto son activas frente a E-BLEE en ausencia de otros mecanismos de resistencia (Paterson, 2005), ha sido evaluada en otros estudios, cuyos resultados no han sido uniformes. El estudio multicéntrico de Matsumura *et al.* realizado en Japón, no pudo encontrar mayor mortalidad en los pacientes con bacteriemias por *E. coli* BLEE tratados con ceftometazol o flomofex frente a carbapenemas cuando ajustó por un *propensity score* (Matsumura, 2015); sin embargo, otros estudios no han podido demostrar la no inferioridad de las cefamicinas (Yang, 2012). Por tanto, los datos disponibles sugieren que en determinadas circunstancias (ITU, o en todo caso infecciones no graves), las cefamicinas podrían ser de utilidad. Sin embargo, en nuestra serie no hemos encontrado un número suficiente de pacientes tratados con estos fármacos como para realizar un análisis que aporte resultados relevantes.

Con respecto a los aminoglucósidos, TMS o las fluoroquinolonas, en principio no existe un motivo aparente para no usarlos de forma dirigida en los pacientes con bacteriemia por E-BLEE sensibles. Los genes que codifican mecanismos de resistencia a alguno de los aminoglucósidos y a TMS pueden estar contenidos en los mismos plásmidos que transportan las BLEE, motivo por lo que la corresponsencia es frecuente (Paterson, 2005). En el caso de las quinolonas, la resistencia se debe habitualmente a la presencia de mutaciones cromosómicas, de manera que probablemente se habría producido una coselección de cepas portadoras de estas mutaciones que además han adquirido el plásmido portador del gen que codifica la BLEE; es cierto que se ha encontrado en algunos clones la asociación de producción de BLEE con mecanismos de resistencia a quinolonas de origen plasmídico (Briales, 2012), pero estos por sí mismos solo suelen causar disminución de sensibilidad y no resistencia de alto nivel a quinolonas. El informe EARSS de 2015 informa que en España las cepas de *E. coli* resistentes a quinolonas, cefalosporinas de 3^o generación y aminoglucósidos combinadas supusieron el 5.5% de los aislados estudiados durante el año 2015 (total 6416 cepas). En el caso de *K. pneumoniae* este porcentaje ascendía hasta el 11.7% (total 1488 cepas). La eficacia de las fluoroquinolonas activas en las bacteriemias por E-BLEE es también controvertida, sobre todo porque algunos trabajos mostraron resultados no muy positivos en series de casos pequeñas (Endimiani 2004; Tumbarello 2007); en estos casos, la CMI de las cepas de los pacientes que fracasaron estaba frecuentemente por encima de 0.25 mg/L, por lo que estarían por encima del actual punto de corte de sensibilidad de EUCAST, aunque serían sensibles de acuerdo con

CLSI. Parecería más seguro, por tanto, usar los puntos de corte de EUCAST al menos para cepas de E-BLEE.

Una pequeña proporción de casos de E-BLEE son sensible a TMS y aunque no hay estudios comparativos que investiguen la eficacia de este antibiótico podría suponer una opción, cuando son sensibles, sobre todo en pacientes con ITU. El número de pacientes tratados con este fármaco en nuestra cohorte es muy bajo para obtener conclusiones, pero claramente es un fármaco a investigar en esta indicación.

Es frecuente que las E-BLEE sean sensibles a algún aminoglucósido, aunque con diferencias entre áreas geográficas. La experiencia clínica publicada previamente con los aminoglucósidos es escasa y se limita a pequeñas series de casos de infecciones urinarias (Vidal, 2007). En un estudio realizado en la zona de La Mancha donde se recogieron *E. coli* y *K. pneumoniae* BLEE de distintas muestras clínicas se observó una tasa de resistencias a gentamicina del 65% en *E. coli* mientras que en *K. pneumoniae* las tasas fueron mucho más altas (86%) (Asencio, 2014). Un estudio realizado por Morosini *et al.* demostró unas tasas de resistencia en E-BLEE del 6.7% a amikacina y un 27.4% a gentamicina y tobramicina. En el estudio del GEIH de 2006, *E. coli* BLEE mantenía sensibilidad frente a amikacina, gentamicina y tobramicina en el 98%, 78.3% y 76% respectivamente (Díaz, 2010). El uso de aminoglucósidos no deja de ser controvertido ya que hay estudios que demuestran un aumento de la toxicidad a expensas de no mejorar la mortalidad. En cualquier caso, en zonas donde la prevalencia de BLEE es alta podría ser una opción como régimen de tratamiento exento de carbapenemas siempre y cuando se cambie a un tratamiento dirigido lo antes posible que presente menor toxicidad que los aminoglucósidos. Fuera del ámbito de las E-BLEE, Vidal *et al.* demostraron en un meta-análisis de ensayos clínicos realizados en pacientes con infecciones diversas que el tratamiento con aminoglucósidos tuvo una eficacia similar que los comparadores en infecciones urinarias, aunque inferior en otras infecciones (Vidal, 2007). Ahora, en la era de la multiresistencia, debemos tenerlos en cuenta como una posibilidad de tratamiento efectivo frente a E-BLEE. En nuestro artículo incluimos bacteriemias tratadas con únicamente un aminoglucósido como tratamiento empírico, que posteriormente resultan ser activos *in vitro*, y no encontramos diferencias significativas en la mortalidad al compararlas frente al tratamiento con carbapenemas. Es cierto que el número de casos es limitado pero, como se comentó antes, de haber una inferioridad relevante hubiéramos esperado al menos una tendencia hacia peor pronóstico. Una cuestión importante es que no recogimos datos sobre el desarrollo de nefrotoxicidad. Podemos suponer que ésta debió ser infrecuente, ya que no

hubo un impacto relevante sobre una variable (el desarrollo de nefrotoxicidad) que suele ser sensible a la duración de la estancia hospitalaria. Un dato importante es que la duración del tratamiento con aminoglucósidos fue corta (mediana de 4 días). Los resultados de un estudio observacional reciente realizado en Holanda sugieren que el uso concomitante de gentamicina en pacientes con sepsis grave o shock séptico no se asoció con reducción de mortalidad y sí con mayor nefrotoxicidad, a pesar de que la duración mediana del tratamiento con estos fármacos fue de 2 días; sin embargo, un alto porcentaje de pacientes recibieron también vancomicina, lo que probablemente tuvo una influencia importante en los resultados (Ong, 2017). Creemos que nuestros datos sugieren que es posible usar aminoglucósidos, bien solos o combinados con otro antibiótico como alternativa al uso de un carbapenema en pacientes con sepsis y alto riesgo de que la etiología sea una E-BLEE. Posteriormente, una vez disponibles los estudios de sensibilidad, deberíamos cambiar la antibioterapia a otro fármaco para evitar su toxicidad en tratamientos prolongados. Esto puede ser especialmente útil en infecciones de origen urinario, en las que diversos estudios han demostrado la eficacia de los aminoglucósidos y en las que a veces podemos conocer la sensibilidad del aislado con alguna antelación si se aisló el microorganismo también en urocultivo. Este planteamiento evitaría el uso de carbapenemas en muchos pacientes que finalmente no tendrán una infección por E-BLEE, aunque es imprescindible valorar el riesgo de nefrotoxicidad en cada paciente, y acortar en lo posible el tiempo de exposición a los aminoglucósidos. En caso de elegir un aminoglucósido deben tenerse en cuenta los datos de sensibilidad local; en nuestro medio elegiríamos amikacina por ser el más frecuentemente activo. Por tanto, creemos que nuestro estudio proporciona la base ética para diseñar un ensayo aleatorizado que compare la eficacia y seguridad (incluyendo el impacto ecológico) del tratamiento con una carbapenema con el tratamiento con una cefalosporina o BL/IBL asociado a amikacina, con revisión del tratamiento a la vista de la etiología y sensibilidad, en pacientes con sepsis potencialmente causada por enterobacterias y con riesgo de E-BLEE, en áreas de alta prevalencia de estos microorganismos. En un ensayo de estas características, el uso de un análisis que considere una variable resultado considerando diversos eventos como la mortalidad, curación, efectos adversos y estancia, como ocurre con el diseño tipo *desirability of outcome ranking* (DOOR) y ajustada a la duración de exposición a los antibióticos de riesgo (*response adjusted for duration of antibiotic risk*, RADAR) sería muy útil (Evans, 2015).

Considerando la precisión y exactitud (*accuracy*) de la estimación obtenida para la asociación del tratamiento empírico con OFA respecto a carbapenemas en el pronóstico,

debemos decir que en nuestro estudio es poco precisa, como se aprecia por el amplio IC 95%. Esto hace que no podamos asegurar que la relación real del tratamiento con OFA no pueda en realidad asociarse con cierto peor (o mejor) pronóstico. Sin embargo, los resultados de los análisis de sensibilidad realizados en subgrupos según los distintos fármacos recibidos (incluso incluyendo BL/IBL en el grupo de referencia), características de los pacientes, gravedad, origen de la bacteriemia o etiología, así como usando distintos criterios de inclusión, junto con los datos del análisis de las cohortes apareadas por índice de propensión, sugieren una alta exactitud para el sentido de la estimación, de manera que las HR calculadas en todos ellos y en el análisis global son coherentes en mostrarse centradas en el 1 (efecto nulo). Es importante resaltar que el objetivo de los análisis de sensibilidad no es obtener una estimación precisa de la OR en los subgrupos, dado que los tamaños muestrales son aun menores, sino observar si en algún subgrupo o población existe una tendencia diferente en la estimación del efecto encontrado en la cohorte global.

Nuestro estudio tiene diversas limitaciones, similares a las señaladas para el otro artículo objeto de esta tesis. Es importante resaltar que no es un estudio aleatorizado, por lo que la influencia del sesgo de indicación se intentó controlar incluyendo en el análisis multivariante, el uso de un índice de propensión y la realización de distintos análisis de sensibilidad. Sin embargo, siempre es posible que exista un cierto grado de confusión residual o causada por variables no medidas. La variable resultado predefinida en el registro del proyecto había sido el fracaso clínico; sin embargo, esta variable es más subjetiva que la mortalidad al día 30; considerando esto y que la mayoría de estudios realizados miden el impacto sobre la mortalidad, hemos usado ésta en el análisis como variable resultado principal, aunque proporcionamos también datos ajustados para el fracaso clínico. Ya se ha comentado la falta de potencia estadística para obtener una estimación precisa de la OR. La estimación específica para cada fármaco es menos precisa aún. Es por eso que debemos ser cautelosos a la hora de interpretar estos resultados, quizás particularmente en pacientes de riesgo elevado de mortalidad (por ejemplo, aquellos con un índice INCREMENT-ESBL ≥ 11) o pacientes en shock séptico, en los que el impacto del tratamiento puede ser mayor, a pesar de que no hemos encontrado tendencia alguna tampoco en estos subgrupos. Un dato importante es que el estudio comprende un período de tiempo amplio, entre 2003 y 2014, en el que la epidemiología y la sensibilidad de las E-BLEE han podido cambiar, lo que dificultaría la aplicabilidad de nuestros resultados al momento actual. Sin embargo, creemos que es poco probable que los potenciales cambios epidemiológicos tengan un impacto relevante en la influencia del tratamiento.

Algunas de las fortalezas de nuestro estudio son su carácter multicéntrico, los criterios de inclusión estrictos que se han aplicado a la hora de seleccionar a los pacientes y la definición de la exposición a los distintos fármacos, las técnicas estadísticas empleadas para controlar la confusión, y el registro previo a la realización de los análisis de las hipótesis del estudio. Respecto a las técnicas estadísticas usadas, hemos utilizado en primer lugar un análisis multivariante clásico, que seleccionó como variables predictoras las incluidas en el índice INCREMENT-ESBL (con la única diferencia de que evaluamos el índice de Charlson en vez de la clasificación de McCabe). En este análisis incluimos el índice de propensión para haber recibido OFA en vez de carbapenemas, que a su vez había mostrado una alta capacidad de predicción para este hecho, como covariable; además realizamos un subanálisis apareando pacientes por el índice de propensión; se pudieron aparear un alto porcentaje de los pacientes tratados con OFA (60 de 86) con otros tantos tratados con carbapenemas. Finalmente, como ya hemos explicado, se realizaron análisis ajustados en distintos subgrupos.

El registro de las hipótesis, diseño y el plan estadístico previo a la realización de un estudio observacional es un aspecto relevante. Uno de los mayores problemas de los estudios observacionales es que, aunque esto esté formalmente desaconsejado, permiten analizar diversas hipótesis *a posteriori*, con distintas variables resultado y de exposición, con distintas definiciones de criterios de inclusión y exclusión, etc. Esto aumenta la probabilidad de que las asociaciones encontradas sean espurias simplemente por azar (Loder, 2010; Thomas, 2012; Bettiol, 2014). Para evitarlo es muy conveniente registrar previamente, de forma pública, las hipótesis, diseño y plan de análisis. El proyecto INCREMENT había sido registrado en ClinicalTrials.gov. En este sentido, el proyecto había prefijado, entre otras, las hipótesis de que el tratamiento empírico con cefalosporinas, con aminoglucósidos o con fluoroquinolonas activas se asocia con mayores tasas de fracaso y mortalidad que el tratamiento empírico con carbapenemas; dado el bajo tamaño muestral obtenido para cada uno de los fármacos específicos, se unificó esta hipótesis en una sola que incluyó a todos los OFA. Consideramos que esta modificación no resta el valor añadido del registro previo de las hipótesis, como así lo entendieron los revisores y editores de la revista donde se publicó el artículo.

CONCLUSIONES

1. Se ha desarrollado y validado un sistema de puntuación predictivo para la mortalidad en el día 30 en pacientes con bacteriemia por E-BLEE (índice INCREMENT-ESBL), calculable en el momento en el que está disponible la sensibilidad a los antibióticos.
2. El sistema de puntuación incluye variables habitualmente disponibles, como son: edad > 50 años (3 puntos), infecciones originadas por *Klebsiella* spp. (2 puntos), origen de la infección distinto del foco urinario (3 puntos), McCabe últimamente o rápidamente fatal (4 puntos), índice de Pitt > 3 (3 puntos), presentación de los síntomas como sepsis grave o shock séptico (4 puntos) y el tratamiento dirigido inapropiado precoz (2 puntos).
3. El sistema de puntuación tiene una buena capacidad predictiva, así como una buena capacidad discriminativa para diferenciar pacientes con alto (≥ 11 puntos) y bajo riesgo de mortalidad (< 11 puntos).
4. La administración empírica de OFA (y particularmente, aminoglucósidos y quinolonas) cuando el microorganismo causal es sensible (y particularmente, aminoglucósidos y quinolonas) en pacientes con bacteriemia por E-BLEE no se asoció con mayor mortalidad, fracaso clínico o estancia hospitalaria que el tratamiento empírico con carbapenemas.
5. La estimación del impacto pronóstico del tratamiento empírico con OFA respecto a las carbapenemas obtenida es poco precisa debido al limitado tamaño muestral, pero los resultados de los distintos análisis de sensibilidad y apareados sugieren una adecuada exactitud acerca de la falta de asociación.
6. Estos resultados sugieren que al menos en algunos grupos de pacientes con bacteriemia por E-BLEE (específicamente, infecciones de origen urinario y sin datos de gravedad), el tratamiento empírico con aminoglucósidos puede ser una buena alternativa al tratamiento con carbapenemas, aunque sería aconsejable que se realizaran más estudios, aleatorizados si es posible, para proporcionar una mayor evidencia al respecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akhan S, Coskuncan F, Tansel O, *et al.* Conjugative resistance to tazobactam plus piperacillin among extended-spectrum β -lactamase-producing nosocomial *Klebsiella pneumoniae*. *Scand J Infect Dis.* 2001;33:512–15.
2. Al-Hasan MN, Juhn YJ, Bang DW, *et al.* External validation of bloodstream infection mortality risk score in a population-based cohort. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20: 886–91.
3. Al-Hasan MN, Lahr BD, Eckel-Passow JE, *et al.* Predictive scoring model of mortality in Gram-negative bloodstream infection. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:948-54.
4. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1980 May;289(1036):321-31.
5. Anderson DJ, Engemann JJ, Harrell LJ, *et al.* Predictors of mortality in patients with bloodstream infection due to ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 May;50(5):1715-20.
6. Asencio MA, Huertas M, Carranza R, *et al.* Tendencia de sensibilidad de los patógenos bacterianos más frecuentemente aislados en el Hospital General La Mancha Centro durante el periodo 2010-2012. *Rev Esp Quimioter* 2014;27(4): 261-8.
7. Asensio A, Oliver A, González-Diego P, *et al.* Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. *Clin Infect Dis.* 2000 Jan;30(1):55-60.
8. Babouee Flury B, Dona V, Buetti N, *et al.* First two cases of severe multifocal infections caused by *Klebsiella pneumoniae* in Switzerland: characterization of an atypical non-K1/K2-serotype strain causing liver abscess and endocarditis. *J Glob Antimicrob Resist.* 2017 Sep;10:165-170.
9. Bai AD, Showler A, Burry L, *et al.* Clinical prediction rules in *Staphylococcus aureus* bacteremia demonstrate the usefulness of reporting likelihood ratios in infectious diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016 Sep;35 (9): 1393-8.
10. Balakrishnan I, Awad-El-Kariem FM, Aali, A *et al.* Temocillin use in England: clinical and microbiological efficacies in infections caused by extended-spectrum and/or derepressed AmpC β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2011 Nov;66(11):2628-31.

11. Banerjee T, Bhattacharjee A, Upadhyay S, et al. Long-term outbreak of *Klebsiella pneumoniae* and third generation cephalosporin use in a neonatal intensive care unit in north India. *Indian J Med Res*. 2016 Oct;144(4):622-29.
12. Baquero F, Reguera JA, Ojeda M, et al. *Escherichia coli* con resistencia a cefalosporina de tercera generación codificada por beta-lactamasas de tipo plasmídico: primer brote en España. *Rev Esp Microbiol Clin*. 1988; 581-82.
13. Ben-Ami R, Rodríguez-Baño J, Arslan H, et al. A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in non-hospitalized patients. *Clin Infect Dis*. 2009 Sep 1;49(5):682-90.
14. Bertrand X, Hocquet D, Boisson K, et al. Molecular epidemiology of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase in a French university-affiliated hospital. *Int J Antimicrob Agents*. 2003;22:128-33.
15. Bettiol E, Rottier WC, Del Toro MD, et al. Improved treatment of multidrug-resistant bacterial infections: utility of clinical studies. *Future Microbiol*. 2014;9(6):757-71.
16. Bin C, Hui W, Renyuan Z, et al. Outcome of cephalosporin treatment of bacteremia due to CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2006 Dec;56(4):351-7.
17. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamasas: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:1-14.
18. Boonyasiri A, Tangkoskul T, Seenama C, et al. Prevalence of antibiotic resistant bacteria in healthy adults, foods, food animals, and the environment in selected areas in Thailand. *Pathog Glob Health*. 2014 Jul;108(5):235-45.
19. Bouza E, Sousa D, Muñoz P, et al. Bloodstream infections: a trial of the impact of different methods of reporting positive blood culture results. *Clin Infect Dis*. 2004 Oct 15;39(8):1161-9.
20. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamasas in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microb Rev*. 2001; 14: 933-51.
21. Briales A, Rodríguez-Martínez JM, Velasco C, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac(6')-Ib-cr in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamasas in Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2012 May;39(5):431-4.

-
22. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, *et al.* Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet*. 1987 Aug;2(8554):302-6.
 23. Burgess DS, Hall RG 2nd. In vitro killing of parenteral beta-lactams against standard and high inocula of extended-spectrum beta-lactamase and non-ESBL producing *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004 May;49(1):41-6.
 24. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995 Jun;39(6):1211-33.
 25. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 54:969-76.
 26. Calbo E, Garau J. The changing epidemiology of hospital outbreaks due to ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*: the CTX-M-15 type consolidation. *Future Microbiol*. 2015;10(6):1063-75.
 27. Cantón R, Loza E, Aznar J, *et al.* Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms from intraabdominal infections and evolution of isolates with extended spectrum β -lactamases in the SMART study in Spain (2002-2010). *Rev Esp Quimioter*. 2011 Dec;24(4):223-32.
 28. Cantón R, Oliver A, Coque TM, *et al.* Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacter* isolates in a Spanish hospital during a 12 year period. *J Clin Microbiol*. 2002; 40: 1237-1243.
 29. CDC report. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. Disponible en: <https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/index.html>
 30. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI M100-S20. CLSI, 2010.
 31. Conte D, Palmeiro JK, da Silva Nogueira K, *et al.* Characterization of CTX-M enzymes, quinolone resistance determinants, and antimicrobial residues from hospital sewage, wastewater treatment plant, and river water. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2017 Feb;136:62-9.
 32. Curcio D. Treatment of recurrent urosepsis with tigecycline: a pharmacological perspective. *J Clin Microbiol*. 2008 May;46(5):1892-3.

-
33. Chopra T, Marchaim D, Veltman J, *et al.* Impact of cefepime therapy on mortality among patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Jul;56(7):3936-42.
 34. de Cueto M, López L, Hernández JR, *et al.* In vitro activity of fosfomicin against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: comparison of susceptibility testing procedures. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 Jan;50(1):368-70.
 35. De Champs C, Rouby D, Guelon D, *et al.* A case-control study of an outbreak of infections caused by *Klebsiella pneumoniae* strains producing CTX-1 (TEM-3) beta-lactamase. *J Hosp Infect.* 1991 May;18(1):5-13.
 36. Delgado-Valverde M, Sojo-Dorado J, Pascual A, *et al.* Clinical management of infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Ther Adv Infect Dis.* 2013 Apr;1(2):49-69.
 37. Delgado-Valverde M, Valiente-Mendez A, Torres E, *et al.* MIC of amoxicillin/clavulanate according to CLSI and EUCAST: discrepancies and clinical impact in patients with bloodstream infections due to Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2017 May 1;72(5):1478-87. doi: 10.1093/jac/dkw562.
 38. Díaz MA, Hernández-Bello JR, Rodríguez-Baño J, *et al.* Diversity of *Escherichia coli* Strains Producing Extended-Spectrum-Lactamases in Spain: Second Nationwide Study. *J Clin Microbiol.* 2010 Aug;48(8):2840-5.
 39. Díaz MA, Hernández R, Martínez Martínez L, *et al.* Extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Spanish hospitals: 2nd multicenter study (GEIH-BLEE project, 2006). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009 Nov;27(9):503-10.
 40. Doi Y, Paterson DL, Egea P, *et al.* Extended-spectrum and CMY-type beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in clinical samples and retail meat from Pittsburgh, USA and Seville, Spain. *Clin Microbiol Infect.* 2010 Jan;16(1):33-8.
 41. Drusano GL. Infection in the intensive care unit: beta-lactamase-mediated resistance among Enterobacteriaceae and optimal antimicrobial dosing. *Clin Infect Dis.* 1998; 27 Suppl 1: S111-16.

-
42. Du Bois SK, Marriott MS, Amyes SGB. TEM- and SHV-derived extended-spectrum β -lactamases: relationship between selection, structure and function. *J Antimicrob Chemother.* 1995 Jan;35(1):7-22.
 43. Eckmann C, Heizmann WR, Leitner E, *et al.* Prospective, non-interventional, multi-centre trial of tigecycline in the treatment of severely ill patients with complicated infections: new insights into clinical results and treatment practice. *Chemotherapy.* 2011;57(4):275-84.
 44. Egea P, López-Cerero L, Torres E, *et al.* Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the south of Spain. *Int J Food Microbiol.* 2012;159: 69-73.
 45. Elliott E, Brink AJ, van Greune J, *et al.* In vivo development of ertapenem resistance in a patient with pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* with an extended-spectrum beta-lactamase. *Clin Infect Dis.* 2006 Jun 1;42(11):e95-8.
 46. Endimiani A, Hujer KM, Hujer AM, *et al.* ACHN-490, a neoglycoside with potent in vitro activity against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Oct;53(10):4504-7.
 47. Endimiani A, Luzzaro F, Brigante G, *et al.* *Proteus mirabilis* bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to the expression of extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 Jul;49(7):2598-605.
 48. Endimiani A, Luzzaro F, Perilli M, *et al.* Bacteremia due to *Klebsiella pneumoniae* isolates producing the TEM-52 extended-spectrum beta-lactamase: treatment outcome of patients receiving imipenem or ciprofloxacin. *Clin Infect Dis.* 2004 Jan 15;38(2):243-51.
 49. Endimiani A, Paterson DL. Optimizing therapy for infections caused by enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases. *Semin Respir Crit Care Med.* 2007 Dec;28(6):646-55.
 50. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Disponible en: <http://www.eucast.org/>.
 51. European Antimicrobial Surveillance System (EARSS). Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf>

-
52. Evans SR, Rubin D, Follmann D, *et al.* Desirability of Outcome Ranking (DOOR) and Response Adjusted for Duration of Antibiotic Risk (RADAR). *Clin Infect Dis.* 2015 Sep 1;61(5):800-6.
 53. Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, *et al.* Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2010;10:43-50.
 54. Fernández-Rodríguez A, Reguera JA, Pérez-Díaz JC, *et al.* 1st Spanish epidemic of plasmid resistance to 3d generation cephalosporins: the implication of SHV-2. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1992 Oct;10(8):456-61.
 55. Frakking FN, Rottier WC, Dorigo-Zetsma JW, *et al.* Appropriateness of empirical treatment and outcome in bacteremia caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Jul;57(7):3092-9.
 56. Freire AT, Melnyk V, Kim MJ, *et al.* Comparison of tigecycline with imipenem/cilastatin for the treatment of hospital-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2010 Oct;68(2):140-51.
 57. Gales AC, Castanheira M, Jones RN, *et al.* Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012 Aug;73(4):354-60.
 58. Goethaert K, Van Looveren M, Lammens C, *et al.* High-dose cefepime as an alternative treatment for infections caused by TEM-24 ESBL-producing *Enterobacter aerogenes* in severely-ill patients. *Clin Microbiol Infect.* 2006 Jan;12(1):56-62.
 59. Goossens H, Grabein B. Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended-spectrum beta-lactamase- and AmpC-producing Enterobacteriaceae from the MYSTIC Program in Europe and the United States (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005 Dec;53(4):257-64.
 60. Grimes CA and Schulz KF. Refining clinical diagnosis with likelihood ratios. *Lancet.* 2005 Apr;365(9469):1500-5.
 61. Gu D, Dong N, Zheng Z, *et al.* A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 2017 Aug 29. pii: S1473-3099(17)30489-9.

-
62. Gudiol C, Calatayud L, Garcia-Vidal C, *et al.* Bacteraemia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* (ESBL-EC) in cancer patients: clinical features, risk factors, molecular epidemiology and outcome. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Feb;65(2):333-41.
 63. Gudiol C, Royo-Cebrecos C, Tebe C, *et al.* Clinical efficacy of β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations for the treatment of bloodstream infection due to extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in haematological patients with neutropaenia: a study protocol for a retrospective observational study (BICAR). *BMJ Open.* 2017 Jan 23;7(1):e013268.
 64. Gutiérrez-Gutiérrez B, Bonomo RA, Carmeli Y, *et al.* Ertapenem for the treatment of bloodstream infections due to ESBL-producing Enterobacteriaceae: a multinational pre-registered cohort study. *J Antimicrob Chemother.* 2016 Jun;71(6):1672-80.
 65. Gutiérrez-Gutiérrez B, Pérez-Galera S, Salamanca E, *et al.* A Multinational, Preregistered Cohort Study of β -Lactam/ β -Lactamase Inhibitor Combinations for Treatment of Bloodstream Infections Due to Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016 Jun 20;60(7):4159-69.
 66. Gutiérrez-Gutiérrez B, Salamanca E, de Cuerto M, *et al.* A predictive model of mortality in patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Mayo Clin Proc.* 2016 Oct;91(10):1362-71.
 67. Gutiérrez-Gutiérrez B, Salamanca E, de Cueto M, *et al.* Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (INCREMENT): a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2017 Jul;17(7):726-734.
 68. Hanberger H, Garcia-Rodriguez JA, Gobernado M, *et al.* Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. *JAMA.* 1999 Jan 6;281(1):67-71.
 69. Harris PN, Peleg AY, Iredell J, *et al.* Meropenem versus piperacillin-tazobactam for definitive treatment of bloodstream infections due to ceftriaxone non-susceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp (the MERINO trial): study protocol for a randomised controlled trial. *Trials.* 2015 Jan 27;16:24.

-
70. Harris PN, Tambyah PA, Paterson DL. β -lactam and β -lactamase inhibitor combinations in the treatment of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae: time for a reappraisal in the era of few antibiotic options?. *Lancet Infect Dis*. 2015 Apr;15(4):475-85. doi: 10.1016/S1473-3099(14)70950-8.
 71. Hawser SP, Bouchillon SK, Lascols C, *et al*. Susceptibility of European *Escherichia coli* clinical isolates from intra-abdominal infections, extended-spectrum β -lactamase occurrence, resistance distribution, and molecular characterization of ertapenem-resistant isolates (SMART 2008-2009). *Clin Microbiol Infect*. 2012 Mar;18(3):253-9.
 72. Hendrik TC, Voor AF, Vos MC. Clinical and Molecular Epidemiology of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella* spp.: A Systematic Review and Meta-Analyses. *PLoS One*. 2015; 10(10): e0140754.
 73. Hernández JR, Pascual A, Cantón R, *et al*. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003; 21: 77-82.
 74. Huang ZM, Mao PH, Chen Y, *et al*. Study on the molecular epidemiology of SHV type beta-lactamase-encoding genes of multiple-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2004 May;25(5):425-7.
 75. Johnson SW, Anderson DJ, Byron May D, *et al*. Utility of a clinical risk factor scoring model in predicting infection with extended-spectrum-b-lactamase producing Enterobacteriaceae on hospital admission. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013; 34: 385–92.
 76. Joo EJ, Park DA, Lee NR, *et al*. Impact of appropriateness of empiric therapy on outcomes in community-onset bacteremia by extended-spectrum- β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* definitively treated with carbapenems. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017 Jun 23. doi: 10.1007/s10096-017-3031-7.
 77. Kader AA, Kumar A, Kamath KA. Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in patients and asymptomatic healthy individuals. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007 Sep;28(9):1114-6.
 78. Kang CI, Kim SH, Park WB, *et al*. Bloodstream infections due to extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:4574-4581.

-
79. Karlowsky JA, Hoban DJ, Hackel MA, *et al.* Antimicrobial susceptibility of Gram-negative ESKAPE pathogens isolated from hospitalized patients with intra-abdominal and urinary tract infections in Asia-Pacific countries: SMART 2013-2015. *J Med Microbiol.* 2017 Jan;66(1):61-69.
 80. 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 Nov;62(5):895-904.
 81. Kim BN, Woo JH, Kim MN, Ryu J, Kim YS. Clinical implications of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *J Hosp Infect.* 2002 Oct;52(2):99-106.
 82. Kittinger C, Lipp M, Folli B, *et al.* Enterobacteriaceae Isolated from the River Danube: Antibiotic Resistances, with a Focus on the Presence of ESBL and Carbapenemases. *PLoS One.* 2016 Nov;11(11):e0165820.
 83. Knothe H, Shah P, Krcmery V, *et al.* Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection.* 1983 Nov-Dec;11(6):315-7.
 84. Lahey®: β -Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes [Internet]; [consultado el 5 de Octubre 2017]. Disponible en: <https://www.lahey.org/Studies/>.
 85. Lavigne JP, Blanc-Potard AB, Bourg G, *et al.* Virulence genotype and nematode-killing properties of extra-intestinal *Escherichia coli* producing CTXM β -lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12:1199–1206.
 86. Lavilla S, González-López JJ, Miró E, *et al.* Dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria: the food-borne outbreak lesson. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Jun;61(6):1244-51.
 87. Lee NY, Lee CC, Huang WH, *et al.* Cefepime therapy for monomicrobial bacteremia caused by cefepime-susceptible extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: MIC matters. *Clin Infect Dis.* 2013 Feb;56(4):488-95.
 88. Lewis JS 2nd, Herrera M, Wickes B, *et al.* First Report of the Emergence of CTX-M-Type Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBLs) as the Predominant ESBL Isolated in

-
- a U.S. Health Care System. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Nov; 51(11): 4015–4021.
89. Liakopoulos A, Mevius D, Ceccarelli D. A Review of SHV Extended-Spectrum β -Lactamases: Neglected Yet Ubiquitous. *Front Microbiol.* 2016 Sep 5;7:1374. doi: 10.3389/fmicb.2016.01374.
90. Livermore DM. Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram-Negative Pathogens. *Korean J Intern Med.* 2012 Jun;27(2):128–142.
91. Lo CL, Lee CC, Li CW, *et al.* Fluoroquinolone therapy for bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Microbiol Immunol Infect.* 2017 Jun;50(3):355-361.
92. Lob SH, Badal RE, Bouchillon SK, *et al.* Epidemiology and susceptibility of Gram-negative appendicitis pathogens: SMART 2008-2010. *Surg Infect (Larchmt).* 2013 Apr;14(2):203-8.
93. Loder E, Groves T, Macauley D. Registration of observational studies. *BMJ.* 2010 Feb;340:c950.
94. López-Cerero L, Navarro MD, Bellido M, *et al.* *Escherichia coli* belonging to the worldwide emerging epidemic clonal group O25b/ST131: risk factors and clinical implications. *J Antimicrob Chemother.* 2014 Mar;69(3):809-14.
95. López-Cortés LE, Cueto M, Rodríguez Baño J. How should we best treat patients with bloodstream infections?. *Future Microbiol.* 2017 Sep;12:927-30.
96. Lucasti C, Hershberger E, Miller B, *et al.* Multicenter, double-blind, randomized, phase II trial to assess the safety and efficacy of ceftolozane-tazobactam plus metronidazole compared with meropenem in adult patients with complicated intra-abdominal infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Sep;58(9):5350-7.
97. Lucasti C, Popescu I, Ramesh MK, *et al.* Comparative study of the efficacy and safety of ceftazidime/avibactam plus metronidazole versus meropenem in the treatment of complicated intra-abdominal infections in hospitalized adults: results of a randomized, double-blind, Phase II trial. *J Antimicrob Chemother.* 2013 May;68(5):1183-92.
98. Maglio D, Ong C, Banevicius MA, *et al.* In vitro killing of parenteral beta-lactams against standard and high inocula of extended-spectrum beta-lactamase and non-ESBL producing *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004 May;49(1):41-6.

-
99. Manzur A, Tubau F, Pujol M, *et al.* Nosocomial outbreak due to extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacter cloacae* in a cardiothoracic intensive care unit. *J Clin Microbiol.* 2007 Aug; 45 (8):2365-9.
 100. Marco F, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among important pathogens collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.) in Spain, 2004-2014. *J Glob Antimicrob Resist.* 2016 Sep;6:50-6.
 101. Matsumura Y, Yamamoto M, Nagao M, *et al.* Multicenter retrospective study of cefmetazole and flomoxef for treatment of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Sep;59(9):5107-13.
 102. Mazuski JE, Gasink LB, Armstrong J, *et al.* Efficacy and Safety of Ceftazidime-Avibactam Plus Metronidazole Versus Meropenem in the Treatment of Complicated Intra-abdominal Infection: Results From a Randomized, Controlled, Double-Blind, Phase 3 Program. *Clin Infect Dis.* 2016 Jun 1;62(11):1380-9.
 103. McGowan A. Breakpoints for extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: pharmacokinetic/pharmacodynamic considerations. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(Suppl 1):166–168.
 104. Minton J, Clayton J, Sandoe J, *et al.* Improving early management of bloodstream infection: a quality improvement project. *BMJ.* 2008 Feb 23;336(7641):440-3.
 105. Mischnik A, Baumert P, Hamprecht A, *et al.* Susceptibility to cephalosporin combinations and aztreonam/avibactam among third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae recovered on hospital admission. *Int J Antimicrob Agents.* 2017 Feb;49(2):239-42.
 106. Morosini MI, García-Castillo M, Coque TM, *et al.* Antibiotic coresistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae and in vitro activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 Aug;50(8):2695-9.
 107. Muhammed M, Flokas ME, Detsis M, *et al.* Comparison Between Carbapenems and β -Lactam/ β -Lactamase Inhibitors in the Treatment for Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Open Forum Infect Dis.* 2017 May 16;4(2):ofx099.
 108. Murray PR, editor. *Manual of clinical microbiology.* Washington (D.C.): ASM Press. 2007.

-
109. Muzslay M, Moore G, Alhussaini N, *et al.* ESBL-producing Gram-negative organisms in the healthcare environment as a source of genetic material for resistance in human infections. *J Hosp Infect.* 2017 Jan;95(1):59-64.
 110. Nicolas-Chanoine MH, Bertrand X, Madec JY. *Escherichia coli* ST131, an Intriguing Clonal Group. *Clin Microbiol Rev.* 2014 Jul; 27(3): 543–74. doi: 10.1128/CMR.00125-13.
 111. Nicolle LE, Mulvey MR. Successful treatment of ctx-m ESBL producing *Escherichia coli* relapsing pyelonephritis with long term pivmecillinam. *Scand J Infect Dis.* 2007;39(8):748-9.
 112. Ong DSY, Frencken JF, Klein Klouwenberg PMC, *et el.* Short-Course Adjunctive Gentamicin as Empirical Therapy in Patients With Severe Sepsis and Septic Shock: A Prospective Observational Cohort Study. *Clin Infect Dis.* 2017;64:1731-36.
 113. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005 Oct;18(4):657-86.
 114. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, *et al.* Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis.* 2004 Jul 1;39(1):31-7.
 115. Paterson DL, Ko WC, 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;140:26-32.
 116. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med.* 2006 Jun;119(6 Suppl 1):S20-8; discussion S62-70.
 117. Payne DJ, Marriott MS, Amyes SG. Characterisation of a unique ceftazidime-hydrolysing beta-lactamase, TEM-E2. *J Med Microbiol.* 1990 Jun;32(2):131-4.
 118. Peña C, Pujol M, Ardanuy C, *et al.* An outbreak of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia, including strains producing extended-spectrum beta-lactamase. *J Hosp Infect.* 2001; 47: 53-59.
 119. Peña C, Pujol M, Ardanuy C, *et al.* Epidemiology and successful control of large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42:53-58.
 120. Peña C, Pujol M, Ricart A, *et al.* Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. *J Hosp Infect.* 1997 Jan;35(1):9-16.

-
121. Peralta G, Sánchez MB, Garrido JC, *et al.* Impact of antibiotic resistance and of adequate empirical antibiotic treatment in the prognosis of patients with *Escherichia coli* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother.* 2007 Oct;60(4):855-63.
 122. Perilli M, Dell'Amico E, Segatore B, *et al.* Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from an Italian nationwide survey. *J Clin Microbiol.* 2002 Feb;40(2):611-4.
 123. Peterson LR. Antibiotic policy and prescribing strategies for therapy of extended spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: the role of piperacillin-tazobactam. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:181-184.
 124. Pitout JD, Le P, Church DL, *et al.* Antimicrobial susceptibility of well-characterised multiresistant CTX-M-producing *Escherichia coli*: failure of automated systems to detect resistance to piperacillin/tazobactam. *Int J Antimicrob Agents.* 2008 Oct;32(4):333-8.
 125. Pitout JD. Infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae: changing epidemiology and drug treatment choices. *Drugs.* 2010 Feb;70(3):313-33.
 126. Pitout JD. Multiresistant Enterobacteriaceae: new threat of an old problem. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2008 Oct;6(5):657-69.
 127. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. nosocomial pathogens epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11:589-603.
 128. Poirel L, Héritier C, Podglajen I, *et al.* Emergence in *Klebsiella pneumoniae* of a chromosome-encoded SHV beta-lactamase that compromises the efficacy of imipenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003 Feb;47(2):755-8.
 129. Poirel L, Lebessi E, Castro M, *et al.* Nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamase SHV-5-producing isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Athens, Greece. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Jun;48(6):2277-9.
 130. Poulakou G, Kontopidou FV, Paramythiotou E, *et al.* Tigecycline in the treatment of infections from multi-drug resistant gram-negative pathogens. *J Infect.* 2009 Apr;58(4):273-84.

-
131. Retamar P, López-Prieto MD, Rodríguez-López F, *et al.* Predictors of early mortality in very elderly patients with bacteremia: a prospective multicenter cohort. *Int J Infect Dis.* 2014 Sep;26:83-7.
 132. 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 Jan;56(1):472-8.
 133. Reyes N, Aggen JB, Kostrub CF. In vivo efficacy of the novel aminoglycoside ACHN-490 in murine infection models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Apr;55(4):1728-33.
 134. Ripoll A, Baquero F, Novais A, *et al.* In vitro selection of variants resistant to β -lactams plus β -lactamase inhibitors in CTX-M beta-lactamases: predicting the in vivo scenario? *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:4530–36.
 135. Rodríguez-Baño J, Alcalá JC, Cisneros JM, *et al.* Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med.* 2008 Sep 22;168(17):1897-902.
 136. Rodríguez-Baño J, de Cueto M, Retamar P, *et al.* Current management of bloodstream infections. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010 Jul;8(7):815-29.
 137. Rodríguez-Baño J, López-Cerero L, Navarro MD, *et al.* Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: prevalence, risk factors and molecular epidemiology. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Nov;62(5):1142-9.
 138. Rodríguez-Baño J, López-Prieto MD, Portillo MM, *et al.* Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16:1408-13.
 139. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Retamar P, *et al.* β -Lactam/ β -lactam inhibitor combinations for the treatment of bacteremia due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*: a *post hoc* analysis of prospective cohorts. *Clin Infect Dis.* 2012 Jan 15;54(2):167-74.
 140. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, *et al.* Bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Infect Dis.* 2006 Dec;43(11):1407-14.

-
141. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, *et al.* Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* as a cause of nosocomial infection or colonization: implications for control. *Clin Infect Dis.* 2006 Jan;42(1):37-45.
 142. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, *et al.* Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in non-hospitalized patients. *J Clin Microbiol.* 2004 Mar;42(3):1089-94.
 143. Rodríguez-Baño J, Pascual A. Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2008 Oct;6(5):671-83.
 144. Rodríguez-Baño J, Paterson DL. A change in the epidemiology of infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *Clin Infect Dis.* 2006 Apr 1;42(7):935-7.
 145. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, *et al.* Risk factors and prognosis of nosocomial bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 2010 May;48(5):1726-31.
 146. Rodríguez-Baño J, Picón E, Navarro MD, *et al.* Impact of changes in CLSI and EUCAST breakpoints for susceptibility in bloodstream infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect.* 2012 Sep;18(9):894-900.
 147. Rodríguez-Cr ixems M, Alcalá L, Muñoz P, *et al.* Bloodstream infections: evolution and trends in the microbiology workload, incidence, and etiology, 1985-2006. *Medicine (Baltimore).* 2008 Jul;87(4):234-49.
 148. Rosso-Fernández C, Sojo-Dorado J, Barriga A, *et al.* Fosfomicin versus meropenem in bacteraemic urinary tract infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* (FOREST): study protocol for an investigator-driven randomised controlled trial. *BMJ Open.* 2015 Mar 31;5(3):e007363.
 149. Rossi, F, Baquero, F, Hsueh, PR, *et al.* In vitro susceptibilities of aerobic and facultatively anaerobic Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: 2004 results from SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). *J Antimicrob Chemother.* 2006;58: 205–10.
 150. Rottier WC, Ammerlaan HS, Bonten MJ. Effects of confounders and intermediates on the association of bacteraemia caused by extended-spectrum β -lactamase-producing

-
- Enterobacteriaceae and patient outcome: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2012 Jun;67(6):1311-20.
151. Ruiz de Alegría C, Rodríguez-Baño J, Cano ME, et al. *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: microbiological and clinical features. *J Clin Microbiol.* 2011 Mar;49(3):1134-6.
152. Salso S, Culebras E, Andrade R, et al. Outbreak of TEM-24- producing *Enterobacter aerogenes* in a Spanish hospital. *Microb Drug Resist.* 2003; 9: 299-305.
153. Sangare SA, Maiga AI, Guindo I, et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from blood cultures in Africa. *Med Mal Infect.* 2015 Sep;45(9):374-82.
154. Schiappa DA, Hayden MK, Matushek MG, et al. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bloodstream infection: a case-control and molecular epidemiologic investigation. *J Infect Dis.* 1996 Sep;174(3):529-36
155. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2007 Nov;60(5):913-20.
156. Senol S, Tasbakan M, Pullukcu H, et al. Carbapenem versus fosfomicin tromethanol in the treatment of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli*-related complicated lower urinary tract infection. *J Chemother.* 2010;22:355-357.
157. Sheng WH, Badal RE, Hsueh PR. Distribution of extended-spectrum β -lactamases, AmpC β -lactamases, and carbapenemases among Enterobacteriaceae isolates causing intra-abdominal infections in the Asia-Pacific region: results of the study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Jul;57(7):2981-8.
158. Sirot D, Sirot J, Labia R, et al. Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother.* 1987 Sep;20(3):323-34.
159. Smet A, Martel A, Persoons D, et al. Diversity of extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* Isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Apr;52(4):1238-43.

-
160. Solomkin J, Hershberger E, Miller B, *et al.* Ceftolozane/Tazobactam Plus Metronidazole for Complicated Intra-abdominal Infections in an Era of Multidrug Resistance: Results From a Randomized, Double-Blind, Phase 3 Trial (ASPECT-cIAI). *Clin Infect Dis.* 2015 May 15;60(10):1462-71.
 161. Soubirou JF, Rossi B, Couffignal C, *et al.* Activity of temocillin in a murine model of urinary tract infection due to *Escherichia coli* producing or not producing the ESBL CTX-M-15. *J Antimicrob chemother.* 2015 May;70 (5):1466-72.
 162. Stapleton PJ, Murphy M, McCallion N, *et al.* Outbreaks of extended spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in neonatal intensive care units: a systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2016 Jan;101(1):F72-8.
 163. Szabó D, Silveira F, Hujer AM, *et al.* Outer membrane protein changes and efflux pump expression together may confer resistance to ertapenem in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 Aug;50(8):2833-5.
 164. Taconelli E, Cataldo MA, De Angelis G, *et al.* Risk scoring and bloodstream infections. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30:S88–92.
 165. Tamma PD, Han JH, Rock C, *et al.* Antibacterial Resistance Leadership Group. Carbapenem therapy is associated with improved survival compared with piperacillin-tazobactam for patients with extended-spectrum β -lactamase bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2015 May 1;60(9):1319-25.
 166. Tamma PD, Rodriguez-Bano J. The Use of Non carbapenem β -Lactams for the Treatment of Extended-Spectrum β -Lactamase Infections. *Clin Infect Dis.* 2017 Apr;64(7):972-80.
 167. 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 Nov;11(11):834-44.
 168. Tato M, Coque MT, Ruíz-Garbajosa P, *et al.* Complex Clonal and Plasmid Epidemiology in the First Outbreak of Enterobacteriaceae Infection Involving VIM-1 Metallo- β -Lactamase in Spain: Toward Endemicity? *Clin Infect Dis.* 2007 Nov;45(9):1171-8.
 169. Thomas L, Peterson ED. The value of statistical analysis plans in observational research: defining high-quality research from the start. *JAMA* 2012;308:773–4.

-
170. Titelman E, Iversen A, Kalin M, *et al.* Efficacy of pivmecillinam for treatment of lower urinary tract infection caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Drug Resist.* 2012 Apr;18(2):189-92.
 171. Treccarichi EM, Cauda R and Tumbarello M. Detecting risk and predictive patient mortality in patients with extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* bloodstream infections. *Future Microbiol.* 2012 Oct;7(10):1173-89.
 172. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, *et al.* Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Jun;51(6):1987-94.
 173. Tumbarello M, Treccarichi EM, Bassetti M, *et al.* Identifying patients harboring extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* on hospital admission: derivation and validation of a scoring system. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Jul;55(7):3485-90.
 174. Tzouvelekis LS, Bonomo RA. SHV-type beta-lactamases. *Curr Pharm Des.* 1999 Nov;5(11):847-64.
 175. Uemura M, Imataki O, Uchida S, *et al.* Strain-specific transmission in an outbreak of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in the hemato-oncology care unit: a cohort study. *BMC Infect Dis.* 2017 Jan;17(1):26.
 176. Valsdottir F, Elfarsdottir Jelle A, Gudlaugsson O, *et al.* Long-lasting outbreak due to CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* ST336 in a rehabilitation ward: report and literature review. *J Hosp Infect.* 2017 Sep;97(1):42-51.
 177. Van Duin D, Doy Y, *et al.* The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Virulence.* 2017; 8(4): 460–9.
 178. Vardakas KL, Tansarli GS, Rafailidis PI, *et al.* Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bacteraemia due to *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β -lactamases: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67: 2793-803.
 179. Vasilev K, Reshedko G, Orasan R, *et al.* A Phase 3, open-label, non-comparative study of tigecycline in the treatment of patients with selected serious infections due to resistant Gram-negative organisms including *Enterobacter* species, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Sep;62 Suppl 1:i29-40.

-
180. Velasco C, Rodríguez-Baño J, García L, *et al.* Eradication of an extensive outbreak in a neonatal unit caused by two sequential *Klebsiella pneumoniae* clones harbouring related plasmids encoding an extended-spectrum β -lactamase. *J Hosp Infect.* 2009;73:157-63.
 181. Velasco C, Romero L, Martínez JM, *et al.* Análisis of plasmoids encoding extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) from *Escherichia coli* isolated from non-hospitalised patients in Seville. *Int J Antimicrob Agents.* 2007; 29:89-92.
 182. Vergara-López S, Domínguez MC, Conejo MC, *et al.* Wastewater drainage system as an occult reservoir in a protracted clonal outbreak due to metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella oxytoca*. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:E490-98.
 183. Vidal L, Gafter-Gvili A, Borok S, *et al.* Efficacy and safety of aminoglycoside monotherapy: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother.* 2007 Aug;60(2):247-57.
 184. 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 Sep;63(6):754-62.
 185. Wang R, Cosgrove SE, Tschudin-Sutter S, *et al.* Cefepime Therapy for Cefepime-Susceptible Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Bacteremia. *Open Forum Infect Dis.* 2016 Jun;3(3):ofw132.
 186. Warren RE, Ensor VM, O'Neill P, *et al.* Imported chicken meat as a potential source of quinolone-resistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Mar;61(3):504-8.
 187. Yahav D, Lador A, Paul M, *et al.* Efficacy and safety of tigecycline: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2011 Sep;66(9):1963-71.
 188. Yang CC, Li SH, Chuang FR, *et al.* Discrepancy between effects of carbapenems and flomoxef in treating nosocomial hemodialysis access-related bacteremia secondary to extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in patients on maintenance hemodialysis. *BMC Infect Dis.* 2012 Sep 5;12:206.
 189. Yu WL, Lee MF, Chen CC, *et al.* Impacts of Hypervirulence Determinants on Clinical Features and Outcomes of Bacteremia Caused by Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Drug Resist.* 2017 Apr;23(3):376-383.

190. Zahar JR, Lesprit P, Ruckly S, *et al.* Predominance of healthcare-associated cases among episodes of community-onset bacteraemia due to extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Int J Antimicrob Agents*. 2017 Jan;49(1): 67-73.
191. Al Sweih N, Salama MF, Jamal W, *et al.* An outbreak of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in an intensive care unit of a teaching hospital in Kuwait. *Indian J Med Microbiol*. 2011 Apr-Jun;29(2):130-5.
192. Merino I, Shaw E, Horcajada JP, *et al.* CTX-M-15-H30Rx-ST131 subclone is one of the main causes of healthcare-associated ESBL-producing *Escherichia coli* bacteraemia of urinary origin in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2016 Aug;71(8):2125-30.
193. Oteo J, Orden B, Bautista V, *et al.* CTX-M-15-producing urinary *Escherichia coli* O25b-ST131-phylogroup B2 has acquired resistance to fosfomycin. *J Antimicrob Chemother*. 2009 Oct;64(4):712-7.

