



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
EN MEDICINA
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Estudio del impacto clínico de una prueba rápida para la detección de betalactamasa de espectro extendido en pacientes con bacteriemia por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*

Alumno: JUAN MANUEL SÁNCHEZ CALVO

Tutor: JUAN CARLOS RODRIGUEZ DÍAZ

Curso: Máster Universitario en Investigación en Medicina Clínica



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
EN MEDICINA
CLÍNICA



D. Juan Carlos Rodríguez Díaz, Profesor Asociado de Ciencias de la Salud (Área de Microbiología) de la Universidad Miguel Hernández de Elche y Jefe de Microbiología del Hospital General Universitario de Alicante.

AUTORIZA:

La presentación del trabajo final de máster titulado "Estudio del impacto clínico de una prueba rápida para la detección de betalactamasa de espectro extendido en pacientes con bacteriemia por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*", realizado por el alumno D. Juan Manuel Sánchez Calvo, bajo mi inmediata dirección y supervisión.

En Alicante, a 15 de junio de 2019

GENERALITAT VALENCIANA
CONSELLERIA DE SANITAT UNIVERSAL I SALUT PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE SALUD ALICANTE - H.G.U.A.
Jefe Sección Microbiología
Juan Carlos Rodríguez Díaz

ABREVIATURAS

BMR	Bacterias multirresistentes
ESBL	Betalactamasas de espectro extendido
ESBLE	Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido
ESBLKP	<i>K. pneumoniae</i> productor de betalactamasas de espectro extendido
PROA	Programas de Optimización del uso de antimicrobianos



RESUMEN/PALABRAS CLAVE

INTRODUCCIÓN: El objetivo será analizar si una prueba rápida para la detección de betalactamasas de espectro extendido (ESBL) en bacteriemias por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, en pacientes mayores de 14 años, podría adaptar precozmente la antibioterapia empírica. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio cuasiexperimental antes después con comparación con una cohorte histórica como grupo control. Los sujetos incluidos serán pacientes consecutivos con hemocultivo positivo por *E. coli* o *K. pneumoniae*. En el grupo control (Grupo A), se informó la identificación del microorganismo. En el grupo experimental (Grupo B) se informará además de la presencia o ausencia de ESBL mediante una prueba cromogénica rápida (ESBL NDP test). Variable principal: adaptación precoz de antibioterapia empírica tras informe de microbiología. **RESULTADOS PRELIMINARES:** En el grupo A, la antibioterapia empírica se adaptó precozmente en el 20%, mientras que en grupo B en el 48,3% [RR 3,74 IC95% (1,66-8,41), $P=0,001$]. La principal causa de adaptación en el grupo B fue la desescalada (26,7%), pasando las cefalosporinas de 3^a generación del 26,7% (n=16) al 58,3% (n=35) tras el informe ($P<0,0001$). En el grupo A, los infectólogos ajustaron la antibioterapia empírica en el 23,4% (11/47). En el grupo B, fue del 51% (26/51), ($P=0,005$). Los días de tratamiento antibiótico fueron $13,24\pm 5,68$ en el grupo A y $9,54\pm 4,65$ en el grupo B ($P<0,0001$). **CONCLUSIONES:** La prueba rápida junto al resultado del MALDI-TOF podría inducir la adaptación precoz de antibioterapia empírica con una frecuencia 3,7 veces mayor que el método convencional, reduciéndose los días de tratamiento antibiótico. El rendimiento podría ser mayor cuando la información sea recibida por los infectólogos.

Palabras clave: Betalactamasas, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, antimicrobianos, bacteriemia, Programas de Optimización del Uso de los Antimicrobiano

ABSTRACT/KEY WORDS

INTRODUCTION: The aim of this study will be assessing if use of the rapid diagnostic test for detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) in patients older than 14 years with *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia will early adaptation the empirical treatment. **METHODS:** Quasi-Experimental study with a historical cohort as a control group. The included subjects will be consecutive patients with positive blood culture by *E. coli* or *K. pneumoniae*. In the control group (Group A), we reported the identification of the microorganisms. In the experimental group (Group B) we will report, in addition, the presence or absence of ESBL by a rapid chromogenic test (ESBL NDP test). The primary outcome: early adaptation of empirical treatment after a microbiology report. **PRELIMINARY RESULTS:** In Group A, empirical treatment was adapted in 20%, whereas in Group B it was adjusted in 48.3% [RR 3.74 IC95% (1.66-8.41), $P=0,001$]. In Group B, the main cause of the change was the antibiotic de-escalation (26.7%). The 3rd generation cephalosporins significantly increased from 26.7% (n= 16) to 58.3% (n= 35) ($P<0.0001$). In Group A, infectious disease specialists adjusted the empirical treatment in 23.4% (11/47). In Group B it was 51% (26/51) ($P<0,005$). The total duration of antibiotic therapy were 13.24 ± 5.68 in Group A and 9.54 ± 4.65 in Group B ($P<0.0001$). **CONCLUSIONS:** Rapid diagnostic testing as ESBL NDP test with MALDI-TOF could induce the early adaptation of empirical treatment with a frequency 3.7 times higher than with identification only, reducing the duration of antibiotic treatment days. The efficiency was higher when the information was received by infectious disease specialists.

Key words: beta-lactamases, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, anti-Infective agents, bacteremia, antimicrobial Stewardship

INDICE

ABREVIATURAS	1
RESUMEN/PALABRAS CLAVE	3
ABSTRACT/KEY WORDS	4
1. INTRODUCCIÓN	7
1.1. Antecedentes del tema	7
1.2. Justificación del estudio	9
2. HIPÓTESIS	11
3. OBJETIVOS	13
4. MATERIAL Y MÉTODOS	15
4.1. Diseño del estudio	15
4.2. Sujetos del estudio	15
4.3. Procesamiento de los hemocultivos	16
4.4. Identificación de los microorganismos	16
4.5. Detección de la presencia de ESBL	17
4.5.1. Prueba rápida para el screening de ESBL	17
4.5.2. Confirmación preliminar de la presencia de ESBL	18
4.5.3. Confirmación definitiva de la presencia de ESBL	18
4.6. Variables	19
4.6.1. Variable principal	19
4.6.2. Variables secundarias	19
4.6.3. Variables para comparación de características basales	20
4.7. Recogida de datos	20
4.8. Análisis estadístico	21
4.9. Limitaciones	21
5. PLAN DE TRABAJO	22
5.1. Cronograma	23
5.2. Distribución de las tareas	23
5.3. Experiencia del equipo investigador	24
6. ASPECTOS ÉTICOS	25
7. APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE LOS RESULTADOS	25
8. PRESUPUESTO	25
BIBLIOGRAFÍA	27

ANEXO I. CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS _____	29
ANEXO II. DEFINICIONES _____	35
ANEXO III. AUTORIZACIÓN DEL COMITÉ ÉTICO _____	39
ANEXO IV. RESULTADOS PRELIMINARES _____	41



1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes del tema

En la actualidad, la resistencia a los antimicrobianos supone uno de los principales problemas de salud pública a los que la sociedad se tiene que enfrentar. Se estima que para el año 2050, la mortalidad por bacterias multirresistentes (BMR) será mayor que la causada por enfermedades como el cáncer. En el año 2018, se estima que las BMR produjeron 180.600 infecciones que causaron 35.400 fallecimientos [1]. Una de las principales causas de este repunte es la elevada presión antibiótica existente como consecuencia de un uso inadecuado de antibióticos, especialmente los carbapenémicos. Las Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (ESBLE) forman parte de este grupo y en los últimos años se han ido diseminando a lo largo del mundo, produciendo infecciones con una elevada mortalidad [2]. Los principales microorganismos capaces de expresar este mecanismo de resistencia son *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Entre las numerosas infecciones que producen estos microorganismos destaca, en especial importancia, las bacteriemias.

Las bacteriemias producidas por ESBLE producen una elevada mortalidad (5-46%) en comparación con aquellas que no los producen (5-25%) [2]. El tratamiento antimicrobiano empírico es de vital importancia, sobre todo en pacientes con sepsis grave, donde un retraso en la instauración del tratamiento antimicrobiano conlleva a un incremento en el riesgo de muerte. Además, se ha demostrado que un inadecuado tratamiento empírico en pacientes con bacteriemia por *K. pneumoniae* ESBL (ESBLKP) aumenta 1,6 veces el riesgo de muerte [3].

Por todo ello es necesario instaurar métodos rápidos en los laboratorios de microbiología para la detección de estos mecanismos de resistencia y medir la eficacia de estas medidas. Existen varios métodos para la detección de ESBL. Estos van desde los métodos moleculares basados, en amplificación isotérmica [4], en técnicas de hibridación en microarrays [5], en métodos de extracción y posterior identificación de la actividad enzimática mediante sistemas de espectrometría de masas como el MALDI-TOF [6], en test de hidrólisis enzimática [7,8], en test de difusión con discos en agar con resazurin [9] o en voltametría [10]. Todos estos estudios se centran en el análisis de la exactitud diagnóstica y en el tiempo o coste de la técnica, pero ninguno analiza el impacto real en salud.

Los métodos de hidrólisis enzimática son técnicas rápidas usadas habitualmente en los laboratorios de microbiología para la detección de diferentes mecanismos de resistencia como carbapenemasas o ESBL [11,12]. Estas técnicas podrían ser de gran ayuda a los equipos PROA (Programas de Optimización del uso de antimicrobianos) y al resto de profesionales sanitarios para un mejor abordaje de estas infecciones, ya que su rapidez es su principal ventaja con respecto a los métodos clásicos como el cultivo. Los equipos PROA forman parte del programa PIRASOA (Programa integral de prevención, control de las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria, y uso apropiado de los antimicrobianos) y se han encargado en los últimos años en los Hospitales Andaluces del manejo y tratamiento de los pacientes con bacteriemia, así como de dar apoyo al resto de los profesionales en el tratamiento de las infecciones por microorganismos multirresistentes, logrando una reducción del consumo y de la presión antibiótica, principalmente de los antibióticos de amplio espectro [13]. Estos equipos se han ido beneficiando de una estrecha colaboración con los Servicios de Microbiología, gracias principalmente al trabajo en equipo y han conseguido una mejor adecuación de la antibioterapia empírica.

Existen pocos estudios que hayan medido el impacto de estas técnicas en la modificación de la conducta prescriptora del facultativo responsable o el impacto en la evolución de la enfermedad. Depret y colaboradores analizaron el impacto del informe del resultado del MALDI-TOF en pacientes con bacteriemia junto con unas recomendaciones de tratamiento establecidas por el equipo de manejo de bacteriemias vs. el informe del resultado del MALDI-TOF y una prueba para la detección rápida de ESBL en bacterias gramnegativas y no encontraron diferencias. La principal limitación de este trabajo es que tuvo en cuenta cualquier tipo de bacteria gramnegativa para el análisis y la prevalencia de ESBL fue muy baja, por lo que no podría ser extrapolable a todos los ámbitos [14]. Sin embargo, otro estudio publicado en 2018 con una estrategia similar si encontró una mejor adaptación de la terapia antibiótica cuando la información de la prueba rápida era incorporada a una estrategia de tratamiento antimicrobiano empírico establecida a priori, aunque para la adecuación del tratamiento solo se analizaron los casos de bacterias gramnegativas productoras de ESBL [15].

En nuestro centro, la prevalencia de ESBL es superior al 10% y el Área de Gestión Sanitaria que abarca nuestro hospital es un área endémica del clon ST512 de *K. pneumoniae* productor de carbapenemasa tipo KPC-3. Además, nuestro hospital es

centro de referencia de la provincia de Cádiz en trasplantes de progenitores hematopoyéticos. Todo esto contribuye a un uso excesivamente elevado de antibióticos de amplio espectro como los carbapenémicos.

La mayoría de los estudios son observacionales y pocos se limitan a analizar el impacto real de estas técnicas con la identificación convencional o mediante técnicas de identificación rápida como el MALDI-TOF. Este estudio podría poner de manifiesto si el uso de técnicas rápidas para la detección de ESBL podría mejorar al abordaje terapéutico de estos pacientes, traducándose en una reducción de antibióticos de amplio espectro y una mejor adecuación de la antibioterapia empírica, pudiendo disminuir la morbimortalidad de estos sujetos. Al no ser posible el diseño de un ensayo clínico, para disminuir el sesgo de selección debido a la ausencia de aleatorización de los pacientes, se empleará un grupo control de características similares procedentes de una cohorte histórica donde solo se informaba la identificación del microorganismo.

1.2. Justificación del estudio

Las pruebas rápidas son herramientas diagnósticas de gran valor en nuestra práctica clínica asistencial y sirven para ayudar a nuestros profesionales a realizar un diagnóstico rápido y de calidad, pudiendo reducir las tasas de morbimortalidad y los costes asociados a la misma. Los laboratorios de microbiología disponen de numerosas pruebas rápidas para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Aunque la microbiología molecular ha avanzado mucho en los últimos años, el principal inconveniente de algunas de estas técnicas es su elevado precio, que impiden que el acceso de esta tecnología esté disponible de manera rutinaria. Las técnicas rápidas no basadas en técnicas moleculares para el diagnóstico de mecanismos de resistencia son una alternativa coste-efectiva. La probabilidad de informar de la presencia de mecanismos de resistencia en enfermedades de elevada transcendencia clínica como la bacteriemia, con cifras elevadas de mortalidad, debería obligar a los servicios de Microbiología a implantar técnicas rápidas que puedan ayudar a actuar rápidamente para así intentar disminuir las elevadas tasas de resistencia que el tratamiento inadecuado ocasiona en nuestro sistema sanitario. El principal problema de esto es que todavía existe un gran temor cuando un paciente presenta una infección grave y nos vemos ante el escenario de desescalar en ausencia de un antibiograma. La mayoría de

las veces se desconoce el impacto clínico que la información de una prueba rápida puede tener sobre el manejo de su enfermedad, ya que no se sabe si este tipo de tecnología aporta la suficiente confianza como para adaptar la antibioterapia empírica de manera precoz. Nuestro estudio pretende analizar si es posible optimizar la antibioterapia mediante la implantación de una prueba rápida para la detección de ESBL y cómo puede afectar esto a nuestros pacientes en términos de presión antibiótica, días de estancia hospitalaria y mortalidad. Los hallazgos de este estudio podrían animar a otros hospitales a implantar de manera rutinaria técnicas de identificación rápida para la detección de ESBL en caso de que estos resultados confirmen la hipótesis planteada.



2. HIPÓTESIS

El uso de una prueba rápida para la detección de la producción de betalactamasas de espectro extendido en pacientes >14 años con bacteriemias producidas por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* podría adaptar precozmente la antibioterapia empírica reduciendo el consumo de carbapenémicos.



3. OBJETIVOS

Objetivo principal

Evaluar la adaptación precoz del tratamiento antimicrobiano empírico tras el informe de la identificación del microorganismo y la presencia o ausencia de ESBL en pacientes >14 años con bacteriemia por *E. coli* o *K. pneumoniae* y comparar el tratamiento con el de una cohorte histórica en la que solo se informó la identificación.

Objetivos secundarios

1. Investigar el impacto en la adaptación precoz de la antibioterapia empírica según si el profesional que recibe la información de las pruebas es el especialista en Enfermedades Infecciosas o no
2. Considerar el tipo de adaptación precoz
3. Estudiar el tipo de antibioterapia seleccionada y si esta antibioterapia resulto apropiada para los pacientes analizados
4. Analizar la duración del tratamiento antimicrobiano asociado a bacteriemia, la estancia hospitalaria y la mortalidad por todas las causas a los 30 días tras la implantación de la prueba rápida y compararla con la cohorte histórica.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Diseño del estudio

Estudio cuasi-experimental antes-después en el que los pacientes se seleccionaran de manera consecutiva tras el diagnóstico de bacteriemia por *E. coli* o *K. pneumoniae*. El grupo control procederá de una cohorte histórica de pacientes diagnosticados de bacteriemia llevada a cabo entre el 1 de octubre de 2016 y el 30 de septiembre de 2017. El grupo experimental estará constituido por pacientes diagnosticados de bacteriemia entre el 1 de agosto de 2018 y el 31 de Julio de 2019. En ambos casos, se incluirán todos los pacientes consecutivos en horario de 8 de la mañana a 8 de la tarde de lunes a viernes y los sábados en horario de 8 a 15 horas.

Solo se incluyó a pacientes mayores de 14 años porque la cohorte histórica del PRO-BAC, que constituye el grupo control, sólo consideró las bacteriemias a partir de esta edad. La razón principal de incluir solo a este grupo de pacientes es que este estudio fue promovido por la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas (SAEI), ya que las bacteriemias son seguidas principalmente por los especialistas en Enfermedades Infecciosas. Además, parte del protocolo de este estudio multicéntrico se centraba en la actuación del infectólogo como parte del equipo PROA de los Hospitales de Andalucía. Por otro lado, el manejo de las bacteriemias en niños menores de 14 años difiere de los adultos en cuanto a tratamiento, posología y otros factores que podrían conducir a conclusiones erróneas en dicho estudio.

4.2. Sujetos del estudio

Tamaño muestral

Teniendo en cuenta que la información del MALDI-TOF (Matrix Assay Laser Dissociation and Ionization-Time Of Fly) (Bruker) puede modificar la actitud terapéutica en un 20% de los casos de bacteriemia y que métodos de diagnóstico rápido como el Firmarray puede modificar la prescripción en el 40 % de los casos, para conseguir una adaptación precoz de la antibioterapia empírica con el método cromogénico alrededor del 40% sería necesario 82 pacientes para el grupo control (Identificación con MALDI-TOF) y 82 sujetos para el grupo experimental

(Identificación con MALDI-TOF y ESBL NDP test), considerando una potencia del 80%, una relación de tamaños muestrales 1:1 y un nivel de confianza del 95%.

Criterios de inclusión del grupo control

Pacientes mayores de 14 años que tengan, al menos, un hemocultivo positivo por *E. coli* o *K. pneumoniae*, cuyo resultado de la identificación del microorganismo del hemocultivo sea informado verbal o telefónicamente al médico responsable. Los sujetos deberán permanecer vivos al menos durante las primeras 48 horas.

Criterios de inclusión del grupo experimental

Pacientes mayores de 14 años que tendrán, al menos, un hemocultivo positivo por *E. coli* o *K. pneumoniae*, cuyo resultado de la identificación del microorganismo y de la prueba rápida para la detección de ESBL del hemocultivo fue informado verbal o telefónicamente al médico responsable. Los sujetos deberán permanecer vivos al menos durante las primeras 48 horas.

Criterios de exclusión

Niños menores de 14 años, bacteriemias polimicrobianas, bacteriemias producidas por *K. pneumoniae* o *E. coli* productores de carbapenemasas, sujetos que fueron derivados a otros hospitales y cuando no se garantizó el adecuado seguimiento de estos durante el periodo de 30 días tras el diagnóstico de bacteriemia

4.3. Procesamiento de los hemocultivos

En el grupo A, los hemocultivos fueron incubados en el sistema BD BACTECTM 9240 Blood culture system (Becton Dickinson and Co, Sparks, MD). En el grupo B, el sistema utilizado será el BD BACTECTM FX (Becton Dickinson and Co, Sparks, MD).

4.4. Identificación de los microorganismos

Tanto en el grupo control como en el grupo experimental, cuando un hemocultivo sea positivo, se realizará una tinción de Gram. En el caso de la observación de bacilos gramnegativos en la tinción, se procederá a la identificación de los microorganismos mediante el sistema MALDI-TOF. Para ello, se extraerán 8 ml de

sangre del frasco del hemocultivo y se transferirán a un contenedor estéril para su posterior centrifugación a 1000 rpm durante 15 minutos en una centrifuga convencional. El sobrenadante será transferido posteriormente a otro contenedor estéril y el sedimento será descartado. El sobrenadante se centrifugará entonces a 4000 rpm durante 15 minutos. El pellet obtenido se procesará de dos formas:

a) para la identificación del microorganismo mediante el sistema MALDI-TOF, se realizará una extracción previa con 1 μ l de ácido fórmico al 100% sobre una tarjeta metálica. A continuación, se añadirá 1 μ l de una matriz (ácido α -cyano-4-hidroxicinámico) y se procederá a la identificación mediante dicho sistema.

b) El resto del pellet se reservará para la realización de la prueba rápida cromogénica para la detección de ESBL.

La confirmación de la identificación de los microorganismos fue realizada, en el caso del grupo control, con el Vitek-2 (Biomérieux), y en el grupo experimental, se llevará a cabo con el sistema MicroScan WalkAway (Beckman Coulter).

4.5. Detección de la presencia de ESBL

4.5.1. Prueba rápida para el screening de ESBL

La detección de ESBL en *E. coli* y *K. pneumoniae* será llevada a cabo mediante el método cromogénico ESBL NDP test modificado descrito por Arca-Suarez y cols. [16].

La preparación del ESBL NDP test será realizado de la siguiente manera:

a) Preparación de la solución madre de rojo fenol

Se pesará 125 mg del reactivo rojo fenol (Sigma-Aldrich) y se diluirá en 25 ml de agua destilada.

b) Preparación de la solución diluida de rojo fenol

Se medirá 2 ml de la solución madre de rojo fenol y se diluirá en 16,6 ml de agua destilada. A continuación se ajustará el pH a 7,8 con una solución de sosa 0,1 N.

c) Preparación del ESBL NDP test

Se añadirá 1 ml de agua destilada sobre el sedimento extraído del hemocultivo y previamente reservado. Se resuspenderá y se pasará 250 μ l a un tubo eppendorf y se

centrifugará a 14.000 rpm durante 1 min. Se eliminará el sobrenadante y se añadirá 100 µl del tampón Rapid-CARBA buffer (Main). Se mezclará en un vórtex el sedimento con el tampón y se dejará a temperatura ambiente durante 15 min. Se traspasará 50 µl a un tubo con 50 µl de cefotaxima, previamente congelado -80°C, cuya concentración habrá sido ajustada a 6 mg/ml. Los otros 50 µl serán traspasados a otro tubo con 50 µl de rojo fenol sin cefotaxima, el cual actuará como control negativo de la prueba. Se incubará 35-37°C durante 15-30 minutos. Una vez finalizado el periodo de incubación, la interpretación de la técnica se hará de la siguiente forma:

- 1) si el tubo con cefotaxima ha virado a amarillo, la prueba se considera positiva, siempre y cuando la solución del tubo con rojo fenol sin cefotaxima permanezca de color rojo.
- 2) si el tubo con rojo fenol sin cefotaxima vira a naranja-amarillo, la prueba se consideraría inválida y habría que repetirla.
- 3) Si el tubo con cefotaxima permanece de color rojo, al igual que el tubo sin cefotaxima, la prueba se considerará negativa.

La causa del viraje de color reside en que, tras la hidrólisis del anillo betalactámico, la cefotaxima se transforma en una forma carboxílica que hace descender el pH de la solución, lo que le otorga un color amarillo al rojo fenol.

También se usará una cepa de *K. pneumoniae* ATCC 700603 como control positivo de la prueba. En este caso, se usará una colonia de dicha cepa tras 18-24 horas de crecimiento en un medio de agar sangre y se procederá a la extracción de la enzima de la misma forma que en el caso anterior.

4.5.2. Confirmación preliminar de la presencia de ESBL

La confirmación preliminar de ESBL fue realizado directamente de la botella de hemocultivo positiva tras la inoculación de 10 µl en los paneles del sistema MicroScan WalkAway.

4.5.3. Confirmación definitiva de la presencia de ESBL

La presencia de ESBL se confirmó mediante el método fenotípico de sinergia con doble disco (cefotaxima, ceftazidima, cefepime y aztreonam) con amoxicilina/ácido clavulánico siguiendo las recomendaciones de EUCAST [17].

4.6. Variables

4.6.1. Variable principal

Adaptación precoz del tratamiento antimicrobiano empírico tras el informe de microbiología: para el análisis se tuvo en cuenta el tratamiento antimicrobiano empírico prescrito por el facultativo responsable antes y después del informe verbal o telefónico del microbiólogo. El resultado se expresará como porcentaje de adaptación precoz de la prescripción.

4.6.2. Variables secundarias

- **Adaptación precoz por Enfermedades Infecciosas:** para estudiar la adaptación precoz de la antibioterapia según si el que recibe la información es el infectólogo u otros facultativos
- **Tipo de adaptación:** para analizarla se categorizará en función del tipo de ajuste de antibioterapia:
 - a) **Inicio de antibioterapia:** paciente sin tratamiento antibiótico antes del informe e inicio de antibioterapia tras recibir la información de la identificación y/o prueba rápida de detección de ESBL.
 - b) **Desescalada:** cambio a un antimicrobiano de menor espectro tras el informe.
 - c) **Escalada:** cambio a un antimicrobiano de mayor espectro tras el informe.
 - d) **Sin cambio:** el informe de microbiología no indujo ningún cambio en la antibioterapia empírica.
 - e) **Cambio por igual espectro:** cuando el antibiótico empírico se cambie por otro con el mismo espectro antimicrobiano
 - f) **Adición:** cuando se añade otro antibiótico sin suspender la antibioterapia empírica inicial
 - g) **Inadecuación:** cuando el antimicrobiano no era adecuado para el tratamiento empírico de la bacteriemia
- **Tipo de antibioterapia:** los antibióticos serán agrupados por familia para facilitar el análisis de los datos (betalactámicos asociados a inhibidores de betalactamasas, cefalosporinas de primera y segunda generación, cefalosporinas de tercera generación, aztreonam, carbapenémicos y quinolonas). Se analizará si el antibiótico prescrito antes y después era apropiado:

- **Tratamiento apropiado:** el que es activo *in vitro* para el microorganismo investigado.
- **Días de tratamiento antibiótico:** desde el día del diagnóstico de bacteriemia hasta la completa resolución de esta (Se incluirá el tratamiento intravenoso y oral).
- **Días de estancia hospitalaria asociados a bacteriemia:** considerados desde el día del ingreso, en caso de que este se deba únicamente al proceso de bacteriemia, hasta el día del alta.
- **Mortalidad por todas las causas a los 30 días:** desde el diagnóstico de bacteriemia hasta 30 días después, independientemente de que el paciente estuviera ingresado o dado de alta.

4.6.3. Variables para comparación de características basales

Para la comparación de las características basales de los dos grupos analizados se recogieron una serie de variables: sexo, edad, índice de Pitt >1, McCabe, Charlson no ajustado a edad, sepsis, shock séptico/sepsis grave, origen de la bacteriemia (comunitaria, asociada a cuidados sanitarios y nosocomial) y foco (urinario, respiratorio, abdominal, respiratorio, endocarditis, piel y partes blandas, osteoarticular, sistema nervioso central y desconocido).

Las definiciones de las diferentes variables están descritas en el **Anexo II**.

4.7. Recogida de datos

La información necesaria para el análisis de los datos y la construcción de las diferentes variables será recogida en un cuaderno de recogida de datos (**Anexo 1**). Toda la información de los sujetos será registrada posteriormente en una base de datos en formato Excel. Los datos clínicos se obtendrán de forma prospectiva de la historia clínica de los pacientes de forma anonimizada. En ningún caso se recogerán datos de carácter personal. Se adoptará un procedimiento de disociación seguro con cualquier dato que permita su asociación con la identidad del paciente. Se garantizará la protección de los datos personales según la Ley 15/1999, de 13 de diciembre y el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre mediante acceso restringido mediante sistema de acceso con dobles claves. Se garantizarán los derechos de los pacientes (declaración de Helsinki actualizada).

4.8. Análisis estadístico

Para la comparación de las características basales de los dos grupos se realizará un análisis descriptivo.

El análisis de la variable principal entre los dos grupos, la adaptación precoz de la antibioterapia empírica según si el facultativo es infectólogo y el análisis del tratamiento antibiótico apropiado, se llevará a cabo mediante un Chi cuadrado de Pearson o la prueba exacta de Fisher. Se realizará también un análisis de riesgo.

Los cambios de tratamiento antibiótico empírico dentro de cada grupo antes y después del informe telefónico o personal se analizarán mediante la prueba de McNemar.

Los días de tratamiento antibiótico y los días de estancia hospitalaria se estudiarán mediante T de Student en caso de distribución normal y mediante U de Mann-Whitney cuando la distribución no lo sea. La distribución de la normalidad será investigada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y por histogramas.

La mortalidad a los 30 días por cualquier causa se analizará mediante curvas de supervivencia de Kaplan-Meier.

En todos los test se empleará un grado de significación estadística <0.5 y se calcularán los intervalos de confianza al 95%.

Para el cálculo de tamaño muestral se utilizará el programa Epidat 4.2 y para el análisis estadístico se usará el programa SPSS versión 25.0.

4.9. Limitaciones

Se trata de un estudio cuasi-experimental por lo que no existirá una aleatorización de los sujetos. Para minimizar los sesgos de selección del estudio se usará una cohorte histórica de pacientes con bacteriemia como grupo control para así poder garantizar la similitud de las características basales de los dos grupos. Ambos grupos habrán sido seguidos de la misma forma con la salvedad de que en el grupo experimental se informará, además, del resultado de la prueba ESBL NDP test. Se asegurará el seguimiento completo de los dos grupos hasta los 30 días. No es posible llevar a cabo un ensayo clínico, cuyo diseño es el más apropiado para este tipo de estudios, porque por un lado, es imposible ocultar la secuencia de aleatorización, y en segundo lugar, no es ético ocultar la presencia de un microorganismo productor de

ESBL, ya que en estas circunstancias es necesario aislar al paciente para evitar la diseminación de la cepa. El hecho de no aislar a un paciente con bacteriemia por un microorganismo productor de ESBL podría ocasionar un grave problema de salud de mayor magnitud que la bacteriemia en sí misma.

Al tratarse de un centro con un elevada DDD de carbapenémicos, puede que los resultados no sean extrapolables a todos los hospitales, salvo a áreas con nuestras particularidades.

En nuestro centro existe un grupo de bacteriemias que está formado por infectólogos que se dedican a atender todos los casos de bacteriemias del hospital, salvo las unidades de Hematología y UCI. Puede que la mayor formación de estos especialistas refleje una mejor prescripción antibiótica empírica, por lo que se tendrá en cuenta estos grupos a la hora del análisis de los resultados.

5. PLAN DE TRABAJO

Todos los sujetos serán reclutados en el servicio de Microbiología tras el diagnóstico de bacteriemia a partir de, al menos, un hemocultivo positivo por cualquiera de los microorganismos anteriormente mencionados. Los resultados serán informados personalmente por el microbiólogo responsable al facultativo que en ese momento llevará al paciente, dejando constancia del nombre y de la especialidad. A partir del día siguiente, el facultativo responsable de las bacteriemias en el hospital se encargará del seguimiento del paciente durante su ingreso, y en el caso de que este fuera inferior a 30 días, del seguimiento tras el alta para asegurarse de la evolución del mismo. En el caso de los pacientes de UCI o Hematología, al tratarse de Unidades independientes donde el Infectólogo no interviene, el seguimiento corresponderá al facultativo responsable de dicha Unidad y los datos serán recabados por contacto de los microbiólogos o infectólogos responsables del estudio para garantizar el cumplimiento de las variables analizadas.

En el grupo experimental, tras la identificación del microorganismo mediante el sistema MALDI-TOF se realizará una prueba rápida para la detección de ESBL (ESBL NDP test). El resultado de la prueba fuera positivo o negativo, será informado junto con la identificación del microorganismo al facultativo responsable, haciéndolo constar en la historia digital del hospital (Diraya).

En los días siguientes se confirmará la presencia o ausencia de ESBL con el método de referencia. La presencia de ESBL será confirmada con el método de sinergia con doble disco. Posteriormente, las cepas serán congeladas a -80°C en un cepario específico para cualquier estudio adicional.

Una vez reclutados todos los sujetos necesarios para la realización del estudio, los datos serán exportados y analizados con el programa SPSS.

5.1.Cronograma

El proyecto se desarrollara según el siguiente cronograma:

Primeros 12 meses: Reclutamiento de los pacientes y seguimiento

Del 13 al 14 mes: Finalización del seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio

Del 15-18 mes: Análisis de los datos y redacción del trabajo

5.2.Distribución de las tareas

Investigadores clínicos

El **Dr. Salvador López Cárdenas** será el especialista en Enfermedades Infecciosas encargado de la recogida de datos clínicos y seguimiento de los pacientes con bacteriemia. También será el nexo de unión con los especialistas de otras unidades para garantizar el seguimiento de los pacientes que no sean atendidos por el equipo de bacteriemias del hospital.

La **Dra. María Dolores López Prieto** será la encargada de informar de los resultados de identificación y del ESBL NDP test de todos los pacientes con bacteriemia, en horario de 8 a 15 horas. También se encargará de recoger los datos de los pacientes que sean avisados fuera de ese horario al día siguiente de la prueba.

Investigador principal

El **Dr. Juan Manuel Sánchez Calvo** será el encargado de preparar los reactivos para la realización de la prueba rápida, así como de formar al personal técnico de cómo realizar el test. Se encargará de completar la base de datos y será el nexo de unión entre los otros

dos investigadores para garantizar el cumplimiento del protocolo y el correcto seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio. Una vez finalizado la inclusión de los pacientes, será el responsable del análisis de datos y de la realización de las comunicaciones que vayan a ser publicadas en congresos o revistas.

5.3.Experiencia del equipo investigador

El Dr. Salvador López Cárdenas es especialista en Medicina Interna y está formado en el campo de las Enfermedades Infecciosas. Actualmente forma parte del equipo PROA del Hospital, siendo el facultativo responsable de garantizar el uso adecuado de los antimicrobianos en el hospital. Por ello está contratado a tiempo completo con Infectólogo en la UGC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. Es uno de los facultativos de la Unidad que participan en varios ensayos clínicos sobre nuevos antibióticos, así como en ensayos de uso adecuado de los antimicrobianos. Está realizando la tesis sobre *Clostridium difficile*, microorganismos relacionado fundamentalmente con el uso inadecuado de los antimicrobianos.

La Dra. María Dolores López Prieto es Jefe de Sección de Microbiología y ha desarrollado su labor asistencia durante la mayor parte de su vida como responsable de la sección de bacteriemias. Ha sido investigadora colaboradora en decenas de proyectos FIS relacionados con las bacteriemias, micobacterias e infecciones por microorganismos multirresistentes. Actualmente es la referente del equipo PROA de la UGC Enfermedades Infecciosas y Microbiología del Hospital y es coautora de más de 20 artículos relacionados con los temas antes mencionados.

El Dr. Juan Manuel Sánchez Calvo es investigador desde hace 15 años y ha participado como investigador colaborador en varios proyectos nacionales relacionados con las bacteriemias, fibrosis quística y microorganismos multirresistentes. Es Doctor por la Universidad Complutense de Madrid y es autor de más de 10 artículos relacionados con la Microbiología y las Enfermedades Infecciosas, así como autor de más de 50 comunicaciones en congresos. Es una de las personas de referencia del equipo PROA del Hospital, así como uno de los integrantes del equipo PIRASOA de la Unidad.

6. ASPECTOS ÉTICOS

El proyecto fue aprobado por la Comisión de Ética Interprovincial de la provincia de Cádiz (**Anexo III**).

Los medicamentos se prescribirán de la manera habitual, de acuerdo con las condiciones establecidas en la autorización. La asignación de un paciente a una estrategia terapéutica concreta no estará decidida de antemano por el protocolo del estudio, sino que estará determinada por la práctica clínica habitual en la medicina. La decisión de prescribir un medicamento determinado estará claramente dissociada de la decisión de incluir al paciente en el estudio.

7. APLICABILIDAD Y UTILIDAD DE LOS RESULTADOS

Los resultados podrían generar recomendaciones sobre la necesidad de implantar métodos rápidos para la detección betalactamasas de espectro extendido en el diagnóstico de bacteriemia en los laboratorios de microbiología como parte de los programas de optimización de uso de los antimicrobianos.

8. PRESUPUESTO

Este proyecto será realizado por los profesionales de la UGC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología del Hospital Universitario e Jerez, los cuales disponen del material necesario para llevar a cabo el proyecto. Debido a que el proyecto será llevado a cabo como parte de la labor diaria asistencial, tampoco será necesario financiación para la contratación de personal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Registro hospitalario de pacientes afectados por las resistencias bacterianas. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 17 mayo 2018. Disponible en: https://seimc.org/contenidos/noticias/2018/seimc-Registro_de_Pacientes_BMR.pdf
2. Palacios-Baena ZR, Gutiérrez-Gutiérrez B, De Cueto M, Viale P, Venditti M, Hernández-Torres A, et al. Development and validation of the INCREMENT-ESBL predictive score for mortality in patients with bloodstream infections due to extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* . 2017; 72:906-913. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkw513>
3. Lodise TP, Zhao Q, Fahrbach K, Gillard PJ, Martin A. A systematic review of the association between delayed appropriate therapy and mortality among patients hospitalized with infections due to *Klebsiella pneumoniae* or *Escherichia coli*: how long is too long? *BMC Infect Dis*. 2018;18:625. Disponible en: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-018-3524-8>
4. Rödel J, Bohnert JA, Stoll S, Wassill L, Edel B, Karrasch M, et al. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification for the rapid identification of bacteria and resistance determinants in positive blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36:1033-40. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10096-016-2888-1>
5. Siu GKH, Chen JHK, Ng TK, Lee RA, Fung KSC, To SWC, et al. Performance Evaluation of the Verigene Gram-Positive and Gram-Negative Blood Culture Test for Direct Identification of Bacteria and Their Resistance Determinants from Positive Blood Cultures in Hong Kong. Becker K, editor. *PLoS One* . 2015;10:e0139728. Disponible en: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0139728>
6. Sauget M, Bertrand X, Hocquet D. Rapid antibiotic susceptibility testing on blood cultures using MALDI-TOF MS. Becker K, editor. *PLoS One*. 2018; 13:e0205603. Disponible en: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0205603>
7. Affolabi D, Sogbo F, Laleye G, Orekan J, Massou F, Kehinde A, et al. Rapid detection of extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in blood cultures using the ESBL NDP test in Cotonou, Benin. *J Med Microbiol* . 2017;66:884-7. Disponible en: <http://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000509>
8. Walewski V, Podglajen I, Lefeuvre P, Dutasta F, Neuschwander A, Tilouche L, et al. Early detection with the β -LACTATM test of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015;83:216-8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S073288931500231X>
9. Fröding I, Vondracek M, Giske CG. Rapid EUCAST disc diffusion testing of MDR *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: inhibition zones for extended-spectrum cephalosporins can be reliably read after 6 h of incubation. *J Antimicrob Chemother* . 2017;72:1094-1102. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkw515>

10. Betelli L, Neuwirth C, Solanas S, Chantemesse B, Vienney F, Hartmann A, et al. A voltammetric test for the rapid discrimination of β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in blood cultures. *Talanta* . 2018; 184:210-8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003991401830208X>
11. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Rapid Detection of Extended-Spectrum-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* . 2012; 50:3016-22. Disponible en: <http://jcm.asm.org/cgi/doi/10.1128/JCM.00859-12>
12. AbdelGhani S, Thomson GK, Snyder JW, Thomson KS. Comparison of the Carba NP, Modified Carba NP, and Updated Rosco Neo-Rapid Carb Kit Tests for Carbapenemase Detection. *J Clin Microbiol* . 2015;53:3539-42. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26311862>
13. Horcajada JP, Grau S, Paño-Pardo JR, López A, Oliver A, Cisneros JM, et al. Antimicrobial stewardship in Spain: Programs for Optimizing the use of Antibiotics (PROA) in Spanish hospitals. *Germs*. 2018;8:109-12. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30250829>
14. Dépret F, Aubry A, Fournier A, Charles-Nelson A, Katsahian S, Compain F, et al. β LACTA testing may not improve treatment decisions made with MALDI-TOF MS-informed antimicrobial stewardship advice for patients with Gram-negative bacteraemia: a prospective comparative study. *J Med Microbiol* . 2018;67:183-9. Disponible en: <http://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000665>
15. Mizrahi A, Amzalag J, Couzigou C, Péan De Ponfily G, Pilmis B, Le Monnier A. Clinical impact of rapid bacterial identification by MALDI-TOF MS combined with the β -LACTATM test on early antibiotic adaptation by an antimicrobial stewardship team in bloodstream infections. *Infect Dis*. 2018; 50:668-77. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23744235.2018.1458147>
16. Arca-Suárez J, Galán-Sánchez F, del Prado Montoro C, Rodríguez-Iglesias MA. A modified ESBL Nordmann/Dortet/Poirel-based protocol to optimize early sepsis management. *J Microbiol Methods* . 2017; 139:45-7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167701217301124>
17. Martinez-Martinez L, Cantón Spain R, Stefani S, Skov R, Glupczynski Y, Nordmann P, et al. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance . 2017. Disponible en: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf

ANEXO I. CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

1. DATOS INGRESO

Código paciente: _____

Fecha ingreso: _____

Sexo: H/M

Edad: _____

Fecha de extracción de hemocultivo: _____

Servicio de extracción de hemocultivo: _____

Tipo de servicio

- Urgencias/Observación
- Médicos
- Quirúrgicos
- Cuidados críticos

Servicio responsable: _____

Tipo de servicio

- Urgencias/Observación
- Médicos
- Quirúrgicos
- Cuidados críticos

2. ENFERMEDADES DE BASE

McCabe

- No fatal (> 5 años)
- Últimamente fatal (< 1 año)
- Rápidamente fatal (< 6 meses)

Índice de Charlson

- Infarto de miocardio: No/Sí

- Insuficiencia cardiaca congestiva:
No/Sí

- Enfermedad cerebrovascular: No/Sí

- Enfermedad vascular periférica: No/Sí

- Demencia: No/Sí

- Hemiplejia o paraplejia: No/Sí

- Enfermedad pulmonar crónica: No/Sí

- Úlcera péptica: No/Sí

- SIDA: No/Sí

- Enfermedad del tejido conectivo:
No/Sí

- Enfermedad renal moderada/grave:
No/Sí

Enfermedades de base:

- Neoplasia hematológica
- Infecciones urinarias de repetición
- Tratamiento inmunosupresor
- Neutropenia <500 neutrófilos/mm³
- Otros, especificar: _____

- Diabetes

- No diabetes
- Diabetes sin afectación de órgano diana
- Diabetes con afectación de órgano diana

- Enfermedad hepática

- No
- Leve
- Moderada o grave

- Tumor

- No
- Cualquier tumor
- Tumor sólido metastásico

Uropatía obstructiva

Patología biliar obstructiva

Usuario de drogas parenterales

Neutropenia <100 neutrófilos/mm³

3. BACTERIEMIA ACTUAL-ADQUISICIÓN

Adquisición

- Nosocomial (>48h de ingreso previos al inicio de los síntomas de bacteriemia)
- Comunitaria
- Asociada a los cuidados sanitarios

Adquisición asociada a los cuidados sanitarios últimos 30 días

Atención en Hospital de día: No/Sí

Hospitalización domiciliaria: No/Sí

Dos o más visitas en consultas externas del hospital: No/Sí

Hemodiálisis: No/Sí

Diálisis peritoneal: No/Sí

¿Ha recibido tratamiento intravenoso?: No/Sí

Cirugía mayor: No/Sí

Cura de herida: No/Sí

Quimioterapia o radioterapia: No/Sí

Residencia en centro sociosanitario (residencia de ancianos,...): No/Sí

Ingreso de más de 48h en centro de crónicos o larga estancia en últimos 60 días: No/Sí

Ingreso de más de 48h en hospitales de agudos en los últimos 60 días: No/Sí

4. BACTERIEMIA ACTUAL-CLÍNICA

FOCO DE LA BACTERIEMIA

- Desconocido
- Urinario
- Digestivo
- Respiratorio
- Endocarditis
- Piel y partes blandas
- Osteoarticular
- Sistema Nervioso Central
- Catéter
- Otro, especificar: _____

GRAVEDAD CLÍNICA EL DÍA QUE EL HEMOCULTIVO ES POSITIVO

- No Sepsis
- Shock séptico
- Sepsis grave
- Sepsis

Score de Pitt

- Fiebre (T^a corporal)

- $\leq 35^{\circ}\text{C}$ ó $\geq 40^{\circ}\text{C}$
- 35.1-36 ó 39-39.9
- 36.1-38.9

- Hipotensión - Disminución aguda de la TA sistólica > 30 mmHg y diastólica < 20 mmHg o Requerimiento de drogas vasopresoras o TA sistólica < 90 mmHg: No/Sí

- Ventilación mecánica: No/Sí

- Fallo cardíaco: No/Sí

- Estado mental
 - o Alerta
 - o Desorientado
 - o Estuporoso
 - o Comatoso

5. BACTERIEMIA ACTUAL-ETIOLOGÍA

¿Paciente hospitalizado en el día que el hemocultivo es positivo?: No/Sí

¿La bacteriemia motivó el ingreso?: No/Sí

Fecha identificación patógeno y/o prueba rápida _____

Fecha sensibilidad _____

Persona informada tras la identificación y/o prueba rápida: _____

Microorganismo/s: _____

Antibiograma de aislamiento actual

- Amikacina	CMI:	S/I/R
- Ampicilina	CMI:	S/I/R
- Amoxicilina/clavulánico	CMI:	S/I/R
- Piperacilina/tazobactam	CMI:	S/I/R
- Cefuroxima	CMI:	S/I/R
- Cefotaxima/ceftriaxona	CMI:	S/I/R
- Ceftazidima	CMI:	S/I/R
- Cefepime	CMI:	S/I/R
- Aztreonam	CMI:	S/I/R
- Ertapenem	CMI:	S/I/R
- Meropenem	CMI:	S/I/R
- Imipenem	CMI:	S/I/R
- Ciprofloxacino	CMI:	S/I/R
- Levofloxacino	CMI:	S/I/R
- Gentamicina	CMI:	S/I/R
- Tobramicina	CMI:	S/I/R
- Trimetoprim-sulfametoxazol	CMI:	S/I/R
- Colistina	CMI:	S/I/R
- Fosfomicina	CMI:	S/I/R

Información adicional

Prueba rápida para detección de BLEE: No/Si

Confirmación BLEE: No/Sí

Prueba rápida para detección de carbapenemasa: No/Si

Confirmación carbapenemasa: No/Sí

6. ANTIBIOTERAPIA

TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO DEL EPISODIO ACTUAL

TRATAMIENTO EMPÍRICO

Tratamiento antimicrobiano empírico 1

Antimicrobiano _____ Día inicio _____ Día fin _____ Activo in vitro: No /Sí

Tratamiento antimicrobiano empírico 2

Antimicrobiano _____ Día inicio _____ Día fin _____ Activo in vitro: No /Sí

TRATAMIENTO TRAS IDENTIFICACIÓN CON MALDI TOF

Tratamiento antimicrobiano 1

Antimicrobiano _____ Día inicio _____ Día fin _____ Activo in vitro: No /Sí

Tratamiento antimicrobiano 2

Antimicrobiano _____ Día inicio _____ Día fin _____ Activo in vitro: No/Sí

TRATAMIENTO TRAS ESBL NDP TEST

Tratamiento antimicrobiano 1

Antimicrobiano _____ Día inicio _____ Día fin _____ Activo in vitro: No/Sí

Tratamiento antimicrobiano 2

Antimicrobiano _____ Día inicio _____ Día fin _____ Activo in vitro: No/Sí

TRATAMIENTO DIRIGIDO

Tratamiento antimicrobiano dirigido 1

Antimicrobiano _____ Día inicio _____ Día fin _____ Activo in vitro: No/Sí

Tratamiento antimicrobiano dirigido 2

Antimicrobiano _____ Día inicio _____ Día fin _____ Activo in vitro: No/Sí

Tratamiento secuencial vía oral

Antimicrobiano _____ Día inicio _____ Día fin _____ Activo in vitro: No/Sí

7. BACTERIEMIA ACTUAL-SEGUIMIENTO

PRONÓSTICO (seguir los pacientes hasta el alta o hasta 30 días después del episodio si sigue ingresado)

- Fiebre ($T^a > 37.8^{\circ}\text{C}$) $>72\text{h}$: No/Sí
- Complicaciones secundarias a tratamiento: _____
- Complicaciones sépticas secundarias: _____
- Infección de dispositivos articulares o endovasculares: No/Sí
- Bacteriemia persistente: No/Sí
- Otras, especificar: _____

EVOLUCIÓN

Exitus (seguir hasta día 30): No/Sí Fecha: _____

Exitus relacionado: No/Sí

Fecha de alta: _____

RECIDIVA/REINGRESO en los 30 días posteriores al diagnóstico de bacteriemia

Recidiva de la infección: No/Sí Fecha: _____

Reingreso por recidiva: No/Sí Fecha: _____



ANEXO II. DEFINICIONES

- **Bacteriemia clínicamente significativa:** bacteriemia que se produce en el contexto de síntomas y signos clínicos sugestivos de afectación sistémica o síndrome de respuesta inflamatoria sistémica
- **Mc Cabe:** gravedad de la enfermedad de base
 - Enfermedad de base no fatal: no enfermedad de base, o de la que no se espera la muerte en al menos 5 años.
 - Enfermedad de base últimamente fatal: es esperable la muerte como consecuencia de la enfermedad de base en menos de 5 años.
 - Enfermedad de base rápidamente fatal: es esperable la muerte como consecuencia de la enfermedad de base en los próximos 3 meses.
- **Índice de Charlson:**
 - Puntuación: 1 Punto
 - Infarto de miocardio
 - Insuficiencia cardiaca congestiva
 - Enfermedad vascular periférica
 - Enfermedad cerebrovascular
 - Demencia
 - Enfermedad pulmonar crónica
 - Enfermedad del tejido conectivo
 - Úlcera péptica
 - Enfermedad hepática leve
 - Diabetes sin afectación órgano diana
 - Puntuación: 2 puntos
 - Hemiplejía o paraplejía
 - Enfermedad renal moderada o grave
 - Diabetes con afectación en órgano diana
 - Cualquier tumor
 - Puntuación: 3 puntos
 - Enfermedad hepática moderada o grave
 - Puntuación: 6 puntos
 - Tumor sólido metastásico
 - SIDA
- Enfermedades de base:
 - **Diabetes mellitus:** cuando conste en la historia, o cuando el paciente esté en tratamiento con antidiabéticos orales o insulina, o cuando se objetive

glucemia igual o superior a 140 mg/dl en pacientes no sometidos a fluidoterapia que pueda producir aumentos en las glucemias (en estos casos se consideran valores superiores a 200 mg/dl). Igualmente se realizará el diagnóstico de diabetes mellitus en pacientes con una HbA1c > 6%.

- **Enfermedad pulmonar crónica:** criterios clínicos de EPOC; enfermedad obstructiva, restrictiva o vascular pulmonar que induzca insuficiencia respiratoria que impida realizar tareas habituales, o datos analíticos de insuficiencia respiratoria; o hipertensión pulmonar (>40 mmHg).
 - **Neoplasia maligna sólida o hematológica:** diagnóstico en los últimos 5 años.
 - **Hepatopatía crónica:** con síntomas o signos de insuficiencia hepática crónica (encefalopatía, ascitis, hipertensión portal, hiperesplenismo).
 - **Insuficiencia renal crónica:** FG < 30 ml/min de más de un mes de evolución, correspondiente a un grado 3 o superior).
 - **Uropatía obstructiva:** enfermedad del tracto urinario en el que existe obstrucción del mismo de manera que requiere de alguna medida terapéutica para evitarla o aliviarla (litiasis, malformación, neoplasia renal/vejiga/próstata, otras).
 - **Infecciones urinarias de repetición:** más de 2 en 6 meses
 - **Enfermedad neurológica discapacitante:** la que produce imposibilidad para la deambulación independiente.
 - **Patología biliar obstructiva:** la que precisa de sistema de drenaje biliar (quirúrgico, externo o prótesis biliar)
 - **Patología intestinal crónica:** enfermedad inflamatoria intestinal u otras que requieran seguimiento habitual por especialista
 - **Úlcera crónica:** más de 1 mes de evolución a pesar de tratamiento.
 - **Insuficiencia cardíaca congestiva:** grados III y IV de la NYHA
- Adquisición comunitaria/nosocomial: se utilizarán los criterios del CDC modificados:
- **Nosocomial:** se considerará como tal aquel episodio en que el hemocultivo positivo se tomó después de 48 horas de ingreso del paciente en el hospital, siempre que el paciente no presentara signos o síntomas relacionados con la infección al ingreso. Si el paciente ha sido trasladado desde otro centro, se

considerará el periodo de 48 horas como referentes al ingreso en el primer hospital.

- **Comunitaria:** los no considerados nosocomiales.
- **Origen de la bacteriemia:** se utilizarán los criterios del CDC de tipos de infección para la localización del origen de la bacteriemia.
- Repercusión sistémica:
 - **Sepsis:** presencia de al menos dos de los siguientes:
 - Fiebre ($T^a \geq 38^\circ\text{C}$) o hipotermia ($\leq 36^\circ\text{C}$)
 - Taquicardia > 90 spm
 - Taquipnea > 20 respiraciones por minuto o $\text{Pa CO}_2 < 32$ mmHg
 - Leucocitosis ($> 12.000/\text{mm}^3$) o leucopenia ($< 4.000/\text{mm}^3$).
 - **Sepsis grave:** Sepsis acompañada de datos de disfunción orgánica:
 - Hipotensión arterial ($\text{TAS} < 90$ mmHg, $\text{TAM} < 70$ o descenso de $\text{TAS} > 40$ mmHg)
 - Hiperlactacidemia (> 3 mmol/l o 24 mg/dl).
 - Alteraciones mentales: desorientación, estupor, disminución del nivel de conciencia (no atribuibles a patología de base)
 - Hipoxemia arterial con $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$.
 - Oliguria (diuresis $< 0,5$ ml/kg/h o 45 ml/h en 2 horas).
 - Incremento de creatinina $\geq 0,5$ mg/dl.
 - Trombocitopenia (< 100.000 plaquetas/ mm^3).
 - Trastorno de la coagulación ($\text{INR} > 1,5$ o $\text{TTPA} > 60$ s).
 - Hiperbilirrubinemia > 4 mg/dl.
 - **Shock séptico:** hipotensión ó hipoperfusión que no cede con aporte de fluidos y que precisa de la administración de aminas vasoactivas.
- **Score de Pitt:** Recoger la puntuación más alta entre el día de la bacteriemia y las 48 horas anteriores. La temperatura oral se considera alrededor de $0,5^\circ\text{C}$ mayor que la axilar.
 - Temperatura:
 - $\leq 35^\circ\text{C}$ ó $\geq 40^\circ\text{C}$: 2 puntos
 - 35,1-36 ó 39-39,9: 1 punto
 - 36,1-38,9: 0 puntos

- Disminución aguda de la TA sistólica >30 mmHg: y diastólica <20 mmHg o requerimiento de drogas vasopresoras intravenosa o TA sistólica < 90 mmHg: 2 puntos
 - Necesidad de ventilación mecánica: 2 puntos
 - Fallo cardiaco: 4 puntos
 - Estado mental
 - Alerta: 0 puntos
 - Desorientado: 1 punto
 - Estuporoso: 2 puntos
 - Comatoso: 4 puntos
- **Tratamiento empírico:** el que se indica antes de conocer la sensibilidad del microorganismo causante.



ANEXO III. AUTORIZACIÓN DEL COMITÉ ÉTICO



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD Y FAMILIAS

D. ^a MÓNICA SALDAÑA VALDERAS COMO SECRETARIA DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE CÁDIZ

HACE CONSTAR

Que en su reunión de fecha 30 de mayo de 2019 se ha revisado el trabajo de fin de master dirigido por D. Juan Carlos Rodríguez Díaz del cual es investigador principal D. Juan Manuel Sánchez Calvo y titulado: Estudio del impacto clínico de una prueba rápida para la detección de betalactamasa de espectro extendido en pacientes con bacteriemia por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Y hace constar que el citado proyecto es viable.

Que presenta suficiente rigor metodológico.

Que la evaluación de costes económicos es correcta.

Que con respecto a su vertiente ética el proyecto cumple los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado en el siguiente centro y por el siguiente investigador principal:

Centro	Investigador	Servicio
Hospital de Jerez	D. Juan Manuel Sánchez Calvo	Microbiología

Y para que así conste, firmo la presente en Cádiz a 31 de mayo de 2019

HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DEL MAR

Avenida Pina de Visiá, 21 - 11009 Cádiz
Teléfono 956 00 21 00 www.hupm.com

ANEXO IV. RESULTADOS PRELIMINARES

1. Datos obtenidos y periodo analizado

El periodo que hemos analizado abarca desde el mes de agosto de 2018 hasta el mes de febrero de 2019. Durante este tiempo hemos incluido en el estudio 60 pacientes con bacteriemia. Para poder comparar las características basales del grupo experimental, se incluirán en este análisis preliminar 60 pacientes con bacteriemia de la cohorte histórica del PRO-BAC 2016 de manera consecutiva.

2. Análisis de las características basales de los dos grupos

Se analizó las características basales de los dos grupos comparadores para verificar si ambos grupos eran homogéneos. En la **Tabla 1** se presentan los resultados del análisis.

En cuanto a las características de las bacteriemias podemos observar que, en grupo experimental, el número de pacientes con bacteriemia de origen nosocomial fue mayor que en grupo control, al igual que el foco de origen digestivo (**Tabla 1**).

Tabla 1. Descripción de las características basales de los dos grupos y de las bacteriemias

Variables	Grupo Control N (%)	Grupo Experimental N (%)
Sexo		
Hombre	24 (40%)	29 (48,3%)
Mujer	36 (60%)	31 (51,7%)
Edad (mediana)	75 (62-83)	66 (53-78)
Índice de Pitt >1	11 (18,3%)	9 (15%)
McCabbe		
No fatal	46 (76,7%)	50 (83,3%)
Ultimamente fatal	10 (16,7%)	5 (8,3%)
Radidamente fatal	4 (6,7%)	5 (8,3%)
Charlson		
Ausencia comorbilidad	32 (53,3%)	12 (20%)
Comorbilidad baja	13 (21,7%)	19 (31,7%)
Comorbilidad alta	15 (25%)	29 (48,3%)
Sepsis	32 (53,3%)	26 (43,3%)
Sepsis grave/Shock séptico	14 (23,3%)	6 (10%)

Origen bacteriemia		
Comunitaria	26 (43,3%)	32 (53,3%)
Asociada a cuidados sanitarios	18 (30%)	15 (25%)
Nosocomial	16 (26,7%)	13 (21,7%)
Foco		
Urinario	33 (55%)	35 (58,3%)
Digestivo	13 (21,7%)	22 (36,7%)
Pulmonar	1 (1,7%)	1 (1,7%)
Catéter	4 (6,7%)	2 (3,3%)
Desconocido	9 (15%)	0 (0%)
Tipo de microorganismo		
<i>E. coli</i>	41 (68,3%)	46 (76,7%)
<i>K. pneumoniae</i>	19 (31,7%)	14 (23,3%)
Presencia de ESBL	11 (18,3%)	7 (11,7%)

3. Adaptación precoz de la antibioterapia empírica

En el grupo control, la adaptación precoz de la antibioterapia empírica tras el informe de microbiología fue del 20% [RR 0,48 IC 95% (0,29-0,8)], mientras que en el grupo experimental fue del 48,3% [RR 1,80 IC 95% (1,28-2,52)]. La probabilidad de adaptar la antibioterapia empírica entre el grupo experimental y el control dio un RR 3,74 IC95% (1,66-8,41), $P=0,001$.

4. Adaptación precoz de antibioterapia empírica según especialista de Enfermedades Infecciosas

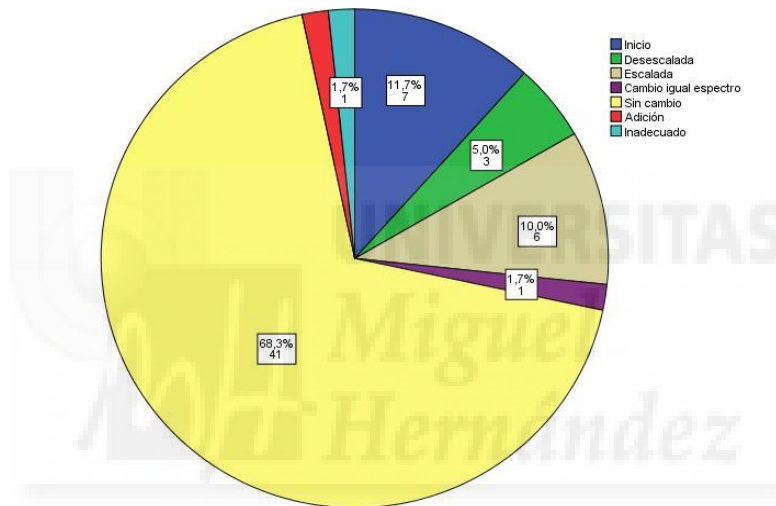
El análisis de la adaptación precoz de la antibioterapia empírica puso de manifiesto que en grupo control, los especialistas en Enfermedades Infecciosas modificaron el 23,4% (n=11) de los tratamientos empíricos, en comparación con el resto de los especialistas, que solo lo modificaron en un 7,7% (n=1) de los casos. Sin embargo, en el grupo experimental, los infectólogos adaptaron la antibioterapia empírica tras el resultado de microbiología en el 51% (n=26) de los pacientes (RR 2,18 IC95% (1,22-3,91), $P=0,005$), siendo el ajuste en el resto de los especialistas del 33,3% (n=3) de un total de 9 pacientes [RR 0,64 IC 95% (0,46-0,88)]. La probabilidad de no ajustar la antibioterapia en el grupo control en comparación con el ESBL NDP test en el grupo experimental dio un RR 6 IC95% (0,51-70,67) en el resto de los especialistas y un RR 3,4 IC95% (1,42-8,13) en los especialistas en Enfermedades Infecciosas.

5. Tipo de adaptación precoz de antibioterapia empírica

En cuanto a las causas de cambio de antibioterapia empírica, en el grupo control la antibioterapia no se modificó en el 68,3% de los pacientes, siendo el cambio por otro de mayor espectro el ajuste más frecuente (**Figura 1a**).

En el grupo experimental, el principal tipo de adaptación precoz de antibioterapia empírica fue la desescalada (26,7%), seguido del cambio de antibioterapia por inadecuación (13,3%), ya que estos pacientes estaban siendo tratados empíricamente con quinolonas (**Figura 1b**).

a)



b)

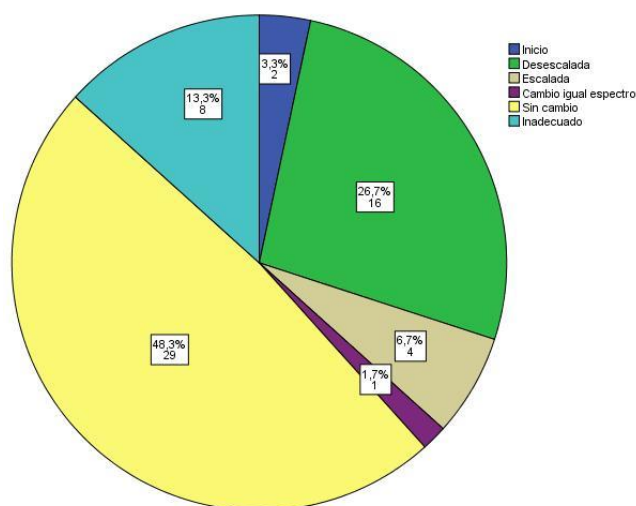


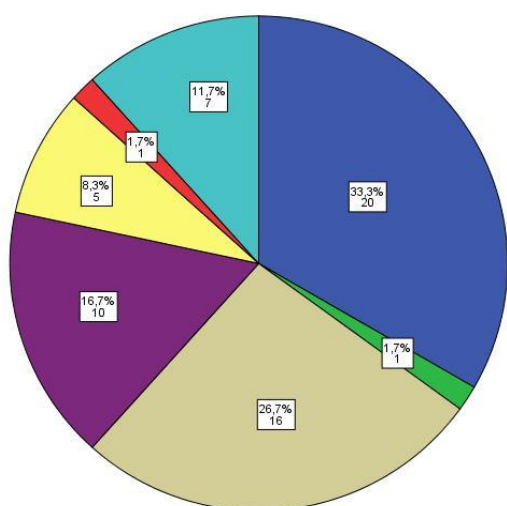
Figura 1. Tipo de ajuste de antibioterapia empírica. (a) Grupo control; (b) Grupo experimental.

6. Tipo de antibioterapia empírica

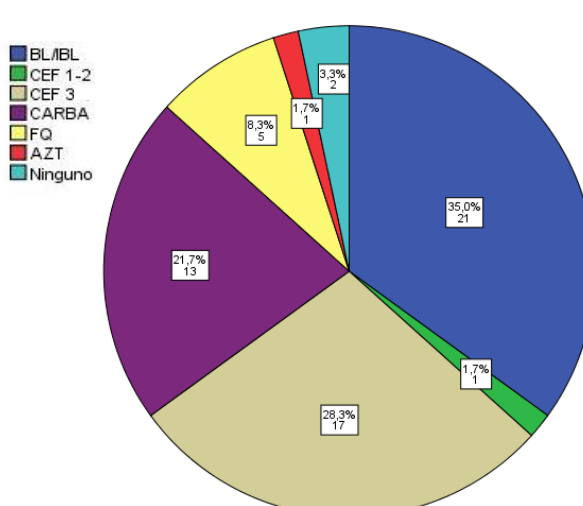
En el grupo control la antibioterapia empírica fue adaptada en un escaso número de pacientes, siendo el grupo de betalactámicos asociado a los inhibidores de betalactamasas la opción preferida por los profesionales que atendieron a los pacientes. El grupo de los carbapenémicos fue el que experimentó un mayor incremento en su prescripción tras el informe de la identificación por parte del Servicio de Microbiología.

Cuando se analizó el grupo experimental se observó que los carbapenémicos eran los antimicrobianos mayormente seleccionados para el tratamiento empírico de las bacteriemias. Tras el informe de la identificación y el resultado la prueba ESBL NDP, en 22 pacientes (32,7%) se pasó a cefalosporinas de 3ª generación, manteniéndose además en 13 (21,7%) de los 16 (26,7%) pacientes inicialmente tratados con estos antimicrobianos ($P < 0,001$). Solo en 3 (5%) pacientes se cambió estos antimicrobianos por carbapenémicos debido a la detección de ESBL por parte del ESBL NDP test. Los carbapenémicos también experimentaron una gran adaptación precoz, ya que de las 17 (28,3%) prescripciones inicialmente seleccionadas, solo 5 (8,3%) se mantuvieron. En 4 (6,7%) pacientes este fue el fármaco elegido para el cambio debido a la detección de ESBL en el microorganismo causante de la bacteriemia. A pesar de ello, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($P = 0,077$).

a)



b)



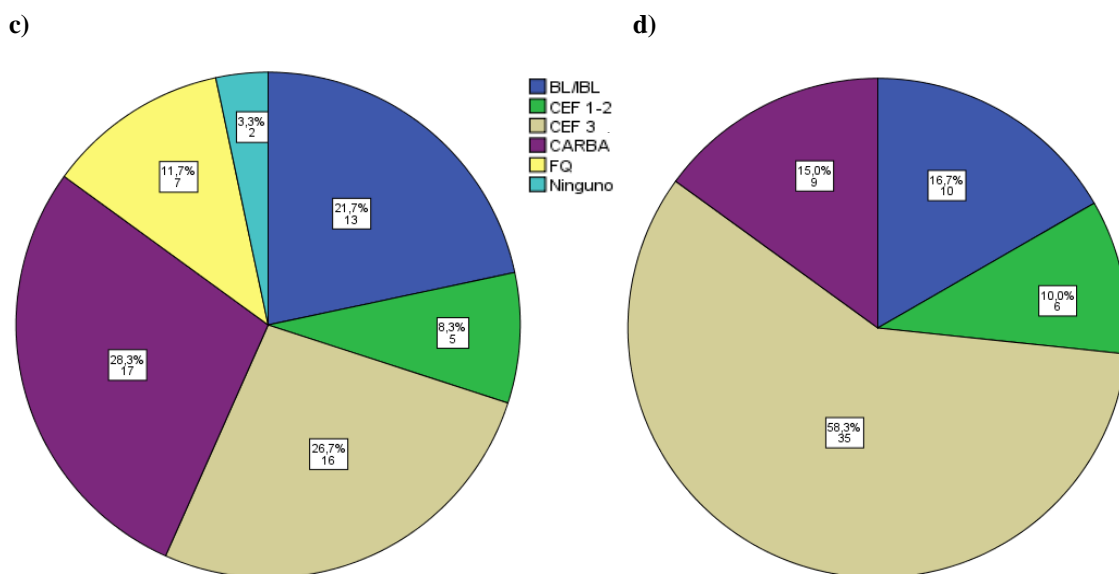


Figura 2. Grupos de antibióticos seleccionados antes y después del informe de microbiología. Grupo control: a) antes del informe; b) después del informe. Grupo experimental: c) antes del informe; d) después del informe.

BL/IBL: betalactámico/inhibidor de betalactamasa (amoxicilina/clavulánico, piperacilina/tazobactam); CEF 1-2: cefalosporinas de primera o segunda generación (cefazolina, cefoxitina, cefuroxima); CEF 3: cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona, cefotaxima, cefditoreno, cefixima); CARBA: carbapenémicos (meropenem, imipenem, ertapenem); FQ: fluorquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino); AZT: aztreonam

En cuanto al tratamiento antibiótico apropiado, en el grupo control, el 79,2% (n=42) de los tratamientos fueron apropiados antes de recibir la información del Servicio de Microbiología, mientras que el grupo experimental fue del 91,4% (n=53). Tras el informe de Microbiología, el 89,7% (n=52) de los tratamientos fueron apropiados en el grupo control y el 98,3% (n=59) en el grupo experimental. El único caso de tratamiento inapropiado en el grupo experimental fue debido a una bacteriemia por *E. coli* no productor de ESBL cuyo tratamiento empírico no se vio modificado en ningún momento ya que el paciente fue dado de alta desde urgencia y respondió adecuadamente al tratamiento a pesar de que el aislado presentaba resistencia a amoxicilina/clavulánico.

7. Días de tratamiento antibiótico

Los días de tratamiento antibiótico asociados al episodio de bacteriemia fueron $13,24 \pm 5,68$ en el grupo control y $9,54 \pm 4,65$ en los pacientes del grupo experimental, siendo esta reducción estadísticamente significativa [IC95% (1,80-5,59), $P < 0,0001$].

8. Días de estancia hospitalaria

Los días de estancia hospitalaria asociados al episodio de bacteriemia fueron 8,5 (5-20,75) días en el caso del grupo control para un total de 32 pacientes ingresados por bacteriemia y 8 (6-15) días para 35 pacientes del grupo experimental, no encontrando diferencias significativas entre ellos ($P=0,424$). Si tuviéramos en cuenta los días de estancia hospitalaria de todos los pacientes, independientemente del motivo de ingreso, en el grupo control obtendríamos 15 (7-24,5) días ($n=53$), mientras que en grupo experimental los días de estancia hospitalaria serían 10,5 (6,2-19,5) ($n=48$), no encontrando tampoco diferencias significativas ($P=0,416$).

9. Mortalidad a los 30 días por cualquier causa

El análisis de las curvas de supervivencia no encontró diferencias entre los dos grupos, ya que la mortalidad en ambos fue del 6,7% ($n=4$) (**Figura 3**).

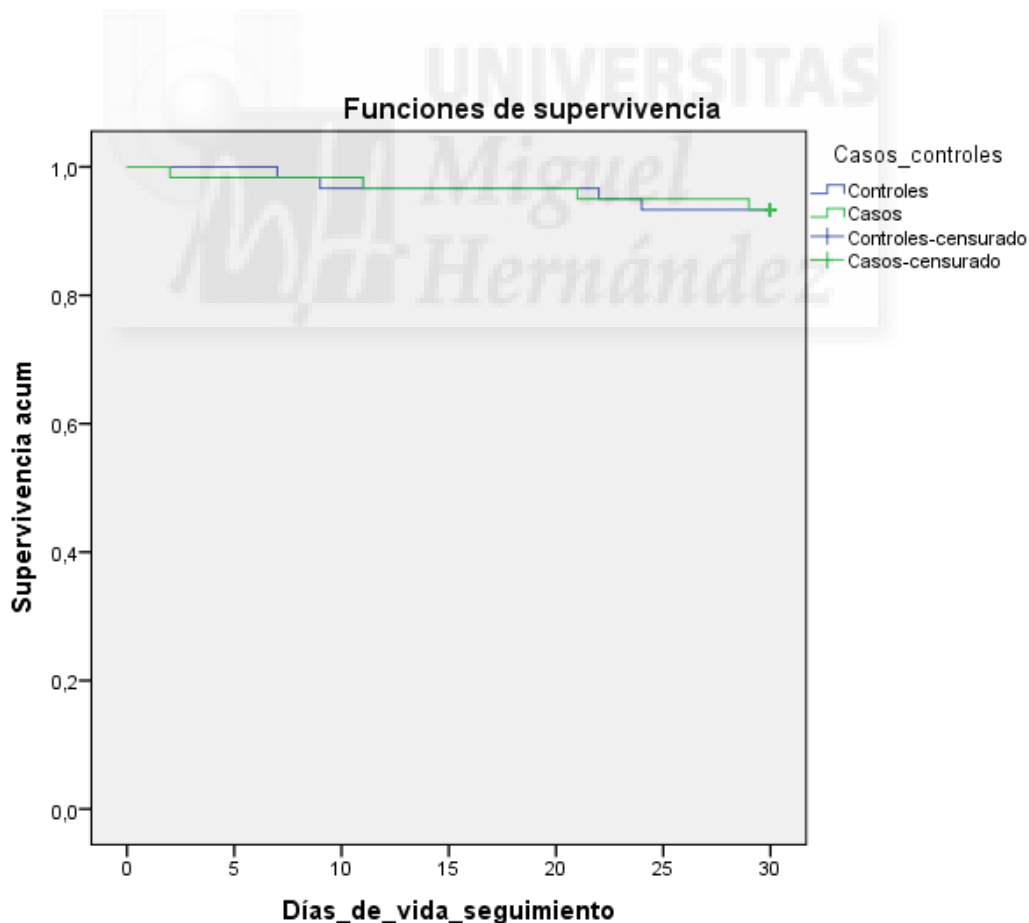


Figura 3. Análisis de mortalidad mediante curvas de supervivencia de Kaplan-Meier

10. Conclusiones

1. El ESBL NDP test junto con la identificación del MALDI-TOF consiguió una adaptación precoz de la terapia empírica un 28,3% mayor que únicamente con la identificación
2. El mayor número de adaptaciones de tratamientos empíricos fueron realizados por los especialistas en Enfermedades infecciosas, siendo el ajuste 3,7 veces más probable cuando se informó el resultado del ESBL NDP test
3. La desescalada fue la intervención más frecuente cuando se informó de un resultado negativo en la prueba del ESBL NDP test
4. El grupo de antimicrobianos que experimento una mayor adaptación precoz a favor fueron las cefalosporinas de 3ª generación, pasando del 26,7% al 58,3% tras el resultado de la prueba rápida.
5. Aunque no se observó diferencias significativas en el grupo de los carbapenémicos, probablemente por el número de pacientes incluidos hasta el momento, estos fueron adaptados en una gran proporción con respecto al grupo control, reduciéndose ampliamente tras el informe de Microbiología.
6. La información del ESBL NDP test, la cual indujo una mayor adaptación precoz de la terapia antimicrobiana empírica, consiguió reducir los días de tratamiento antibiótico con respecto a la metodología convencional de informar solo la identificación del microorganismo.
7. No se observó diferencias en los días de estancia hospitalaria asociados a bacteriemia, aunque los días de estancia hospitalaria, cuando los pacientes ingresaron por cualquier causa, si que experimentaron una reducción, aunque no de manera significativa.
8. La mortalidad por cualquier causa a los 30 días fue la misma en los dos grupos de estudio.

11. Recomendaciones para futuras investigaciones

Aunque los datos parecen apoyar la hipótesis de partida, son necesario la inclusión de un mayor número de pacientes para poder confirmarla adecuadamente. Sería necesario tener en cuenta que los datos de partida podrían estar afectados por las características de nuestra área sanitaria, donde actualmente tenemos una endemia de por un clon de

Enterobacteria productora de carbapenemasa. Esto podría incrementar los tratamientos empíricos con carbapenémicos, por lo que los resultados obtenidos en nuestro estudio podrían no ser extrapolable a otras áreas donde no tengan este problema. Igual sería conveniente llevar a cabo algún ensayo clínico u otro estudio de similares características a este para confirmar estos resultados.

Lo mismo ocurriría en hospitales donde las bacteriemias no son vistas por especialistas en Enfermedades Infecciosas o bien no existen equipos PROA para el control de la infección. Los resultados en estos casos podrían variar, por lo que todo esto tiene que ser tenido en cuenta.



