

Ministerio de Salud Pública
Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”

Título: Resistencia antimicrobiana y detección de β -lactamasas en bacilos gram negativos causantes de infecciones neonatales en La Habana. 2017-2020

Tesis para optar por el título de
MÁSTER EN BACTERIOLOGÍA-MICOLOGÍA

Autora: Dra. Arlenis Oliva Falcón

Tutoras: Dra. Dianelys Quiñones Pérez
Dra. Yenisel Carmona Cartaya

La Habana 2021

Ministerio de Salud Pública
Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”

Título: Resistencia antimicrobiana y detección de β -lactamasas en bacilos gram negativos causantes de infecciones neonatales en La Habana. 2017-2020

Tesis para optar por el título de
MÁSTER EN BACTERIOLOGÍA-MICOLOGÍA

Autora: Dra. Arlenis Oliva Falcón

Tutoras: Dra. Dianelys Quiñones Pérez

Dra. Yenisel Carmona Cartaya

La Habana 2021

AGRADECIMIENTOS

Los sueños son la base de la vida, alcanzarlos es nuestra recompensa más valiosa, que representa la lucha que día a día se tiene para ganar las batallas que durante todo este tiempo se presentaron, para obtenerlo solo fue posible gracias a:

Dios por protegerme y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

Mis tutoras las Dras. Dianelys y Yenisel, por enseñarme a dar los primeros pasos en la investigación, por sus inestimables consejos y dedicación.

A todos los Neonatólogos y Microbiólogos que participaron en la investigación, por su gran ayuda.

A mis compañeras de trincheras, las técnicas y licenciadas del Hospital William Soler Ledea, colectivo del cual orgullosamente formo parte y en donde me siento como en familia, que no me dejan flaquear pues siempre están ahí para pelear conmigo, sobre todo en estos dos años de pandemia que han sido de mucho trabajo.

A mi mamá Idania, sin la cual hoy este resultado sería imposible, por ser mi retaguardia y asumir parte de mis responsabilidades para que yo siguiera adelante.

A mi esposo Yovanis, por ser mi apoyo incondicional.

Al **Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”**, en el cual me formé como especialista en Microbiología, pilar de conocimientos, principios y aprendizaje, agradezco en especial a todos los profesores al contribuir en mi formación.

A todos, gracias.

“Para lograr el éxito, solo es necesario tener fe en nuestros sueños”

DEDICATORIA

A mis padres por sus enseñanzas y educación.

A mi pequeña hija, fuente de luz e inspiración.

A mi esposo por su apoyo incondicional.

A ellos que siempre tuvieron una palabra de aliento en los momentos difíciles.

Resumen:

Las infecciones neonatales por bacilos gram negativos se encuentran en aumento y se asocian a un incremento de la morbilidad y mortalidad. Con el objetivo de conocer el comportamiento de la resistencia antimicrobiana y los mecanismos implicados en la misma, durante los meses de febrero a diciembre de 2021 se realizó en Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Asistencia del Instituto de Medicina Tropical “**Pedro Kourí**” un estudio retrospectivo descriptivo de corte transversal, que incluyó 120 aislados de bacilos gram negativos, causantes de infección neonatal en 6 Hospitales Gineco-Obstétricos y Pediátricos de La Habana. Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana por el método de Kirby- Bauer y se determinó la producción de β -lactamasas. Por último se clasificaron los aislados acorde a su antibiotipo en multidrogorresistentes, extremodrogorresistentes y pandrogoresistentes. Las aminopenicilinas, cefalosporinas de tercera generación, ciprofloxacino y gentamicina resultaron ser los fármacos con menor efectividad in vitro. Se confirmó producción de β -lactamasas en 38,4%, predominaron las BLEE con 32% y las AmpC con un 5%, un 2% fue productor de metalo- β -lactamasas. Los carbapenémicos y colistina, resultaron ser los antimicrobianos más activos frente a los aislados productores de BLEE y AmpC con 100% de sensibilidad. Un 96% fue MDR y un 4,2% fue XDR. Los resultados del estudio sugieren que la resistencia a antimicrobianos en bacilos gram negativos causantes de infecciones en neonatos, constituye un problema de salud en hospitales de La Habana, y revelan la necesidad de un monitoreo continuo de la susceptibilidad antimicrobiana de estos patógenos.

Abreviaturas

OMS: Organización Mundial de la Salud.

ATMs: Antimicrobianos

ATM: Antimicrobiano

BLEE: β -lactamasas de espectro extendido

LNR-IAAS/IPK: Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

CLSI: Comité Internacional de Estandarización de Laboratorio Clínico, de sus siglas en inglés

MDR: Multidrogorresistente

XDR: Extremodrogorresistente

PDR: Pandrogorresistente

UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales

MLB: Metallo β -lactamasas

AUG: Amoxicilina/clavulánico

CAZ: Ceftazidima

FOX: Cefoxitín

CTX: Cefotaxima

CRO: Ceftriaxona

ATM: Aztreonam

MRP: Meropenem

ÍNDICE

I. Introducción.....	1
II. Objetivos.....	4
III. Marco teórico.....	5
III.1 Incidencia de la infección neonatal en Cuba y en el Mundo.....	5
III.2 Costos asociados al tratamiento de infecciones neonatales.....	6
III.3 Definición y clasificación de las infecciones neonatales.....	7
III.4 Etiología.....	7
III.5 Diagnóstico microbiológico de la infección del recién nacido.....	8
III.6 Tratamiento antimicrobiano de las infecciones neonatales.....	9
III.7 Resistencia bacteriana.....	10
III.8 Mecanismos de resistencia.....	11
III.8 a. Alteración del sitio blanco del antibiótico.....	11
III.8 b. Alteración en las barreras de permeabilidad.....	11
III.8 c. Inactivación del antibiótico por destrucción o modificación de la estructura química.....	12
III.9 β -lactamasas.....	13
III.9 a. Concepto.....	13
III.9 b. Clasificación.....	13
III.9 c. BLEE.....	14
III.9 c.1 BLEE de mayor importancia clínica.....	14
III.9 d. β -lactamasas inducibles tipo AmpC.....	15
III.9 d. Carbapenemasas.....	16
III.9 d 1. Clasificación de las carbapenemasas.....	17
III. 9 e. Epidemiología de las β -lactamasas.....	17
III.9 f. Definiciones de multidrogorresistencia, extremodrogorresistencia y pandrogorresistencia.....	19
IV. Material y Método.....	21
IV.1 Operacionalización de variables.....	22
IV.2 Procedimientos que permitieron cumplimentar los objetivos trazados.....	23
IV.2 a. Estudio de susceptibilidad.....	23

IV.2 b. Método de difusión en agar o Bauer-Kirby.....	24
IV.2 c. Detección de BLEE	24
IV.2 d. Detección de β -lactamasa tipo AmpC.....	25
IV.2 e. Detección de Carbapenemasa.....	25
IV.2 f. Determinación de antibiotipos y clasificación de los aislados en multidrogorresistente, extremodrogorresistente y pandrogorresistente.....	26
IV.3 Análisis y procesamiento estadístico.....	28
IV.4 Consideraciones éticas.....	28
IV.5 Limitaciones del estudio.....	28
V. Resultados y Discusión.....	29
VI. Conclusiones.....	44
VII. Recomendaciones.....	45
VIII. Bibliografía.....	46

I. INTRODUCCIÓN

I. Introducción

La infección neonatal es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los recién nacidos (1). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) ocurren en el mundo alrededor de 4 millones de muertes neonatales cada año y aproximadamente un tercio de estas se deben a enfermedades infecciosas(2). Se calcula que 25% de los fetos se infectan intraútero y hasta 10% de los neonatos durante el parto o en el primer mes de vida. La tasa de incidencia de sepsis neonatal en el mundo desarrollado se encuentra entre un 0,6 y un 1,2% de todos los nacidos vivos, pero en el mundo en desarrollo puede alcanzar entre un 20 y un 40%(3).

Los grandes avances en el cuidado intensivo neonatal durante los últimos veinte años permiten una mejora en la supervivencia de prematuros, recién nacidos de muy bajo peso y con anomalías congénitas. Las maniobras terapéuticas a las que son sometidos algunos recién nacidos, ya sea en el momento del nacimiento o cuando requieren cuidados especiales, suelen ser en su mayoría invasoras y conllevan a largos períodos de hospitalización lo cual está en relación con el incremento de infecciones, principalmente por bacilos gram negativos (3, 4).

En los países en vías de desarrollo, se considera que alrededor del 60% de los casos de infección neonatal temprana y un 32,5% de los casos de infección neonatal tardía se deben a bacterias gram negativas. Las especies implicadas con mayor frecuencia son *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp (5).

En la última década numerosas publicaciones hacen notar que los hospitales a nivel mundial enfrentan una crisis sin precedentes por la aparición de microorganismos resistentes a los antimicrobianos (ATMs) (6). Dado que este fenómeno tiene como principales consecuencias el fracaso de la terapia antimicrobiana, el incremento de la morbilidad y el aumento en los costos de la atención médica, resulta indispensable su contención al nivel internacional (7).

La facilidad que las bacterias poseen para adquirir e intercambiar material genético explica la rapidez con que algunas de ellas desarrollan resistencia. Los mecanismos más importantes implicados en esta problemática son la aparición de β -lactamasas, la

modificación en la diana de actuación, la inactivación enzimática, la reducción de la permeabilidad de la membrana y la aparición de mecanismos de expulsión activa (8).

En las bacterias gram negativas la resistencia a los betalactámicos se origina por varios mecanismos, pero el más importante, por su frecuencia y eficacia, es la producción de β -lactamasas (9). De todas las β -lactamasas descritas hasta el momento, cabe destacar, por su interés e implicaciones clínicas, las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), las cefalosporinas tipo AmpC y las carbapenemasas. El incremento de la resistencia mediante la producción de estas enzimas restringe el empleo de los antibióticos betalactámicos, considerados de primera línea como tratamiento empírico en las infecciones neonatales (10).

En el anuario estadístico de salud de Cuba se refleja que en los últimos 5 años, las infecciones se sitúan en la tercera causa de mortalidad neonatal, tanto las congénitas como las adquiridas después del nacimiento, con un incremento de la tasa de incidencia de infecciones de inicio precoz desde 1,2 a 3,8% y en las infecciones de inicio tardío desde 0,6 hasta 1,6% (11).

Según información ofrecida por el Ministerio de Salud Pública desde 2017 hasta 2021 se registra un aumento de la letalidad asociada a infecciones, con cifras desde 0,1 hasta 5,2% para las de inicio precoz y desde 3,7 hasta 11,4% para las infecciones de inicio tardío, a expensas de bacilos gram negativos como *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae*, notificándose eventos de brotes en provincias orientales y occidentales por estos microorganismos (12).

El diagnóstico de las infecciones en el recién nacido no es fácil debido a que la clínica es totalmente inespecífica, las pruebas microbiológicas para confirmarla no tienen la sensibilidad deseada, esto trae consigo que el tratamiento antibiótico se inicie de forma inmediata, la mayoría de las veces empírico y con una profilaxis que no está exenta de complicaciones para el recién nacido (13).

Estudios puntuales en el país sobre sepsis neonatal destacan a *K. pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae*, entre los primeros agentes etiológicos y enfatizan en la resistencia elevada de los mismos a los antimicrobianos de uso habitual en servicios de neonatología (14-16). Lo que pone en evidencia la necesidad inminente de incrementar la vigilancia de la susceptibilidad antimicrobiana y los mecanismos implicados en la

resistencia de los gérmenes aislados en estas patologías, con la finalidad de guiar el tratamiento empírico de forma más efectiva.

Debido a que las infecciones neonatales constituyen la tercera causa de muerte en el país (11) y al registro de un incremento de bacterias gram negativas implicadas en esta problemática, se hizo necesario realizar la investigación actual. Por otro lado en Cuba existen poca información publicada sobre la incidencia y la susceptibilidad de los agentes etiológicos de las infección neonatal. A partir de las observaciones anteriormente planteadas la autora desde el Laboratorio Nacional de Referencia de Infecciones Asociadas a la Asistencia Sanitaria del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (LNR-IAAS/IPK) realizó un estudio inicial sobre el comportamiento de la infección neonatal por patógenos gram negativos y factores de riesgo asociados en la Habana durante 2017-2018 (17), donde los bacilos gram negativos tuvieron un papel relevante como agentes causales de infección, los que además mostraron resistencia elevada a los ATMs de primera línea en el manejo de esa entidad clínica, pero debido al bajo número de aislamientos se recomendó incrementar la muestra. Por tanto, resulta imprescindible continuar la investigación con la finalidad de conocer y profundizar en el perfil de resistencia a los ATMs y mecanismos resistencia implicados en los gérmenes asociados a infecciones neonatales.

A propósito de esta problemática planteamos las siguientes preguntas científicas.

¿Cómo se comportará la resistencia bacteriana en los bacilos gram negativos aislados en infecciones neonatales en hospitales de La Habana?

¿Cuáles serán los mecanismos de resistencia que se involucran con mayor frecuencia en la resistencia a betalactámicos?

II. OBJETIVOS

II. Objetivos

Específicos:

1. Describir el perfil de resistencia a antimicrobianos de importancia terapéutica en neonatología en los aislados, objetos de estudio.
2. Determinar la frecuencia de producción de β -lactamasas de espectro extendido, AmpC y carbapenemasas en los aislados con resistencia a betalactámicos.
3. Identificar los antibiotipos de los aislados objetos de estudio, acorde a la clasificación de la resistencia en multidrogorresistentes, extremodrogorresistente y pandrogorresistente

III. MARCO TEÓRICO

III. Marco teórico

III.1 Incidencia de la infección neonatal en Cuba y en el Mundo

La infección neonatal es un problema grave tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. La tasa de incidencia de infección neonatal varía según la región geográfica, recursos económicos y sanitarios, riesgos maternos y fetales (14). La OMS calcula que en todo el mundo fallecen casi 5 millones de recién nacidos al año y 30 a 40% de las muertes neonatales tienen relación con infecciones. Además, se estima que la incidencia de infección entre los pacientes internados en Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) es de 18 a 30% (6).

La mortalidad infantil no se circunscribe al pasado ni mucho menos a la ficción. Según estimaciones actuales de la OMS cada año más de 400 000 recién nacidos pierden la vida por infecciones y dentro de estos más de 200 000 mueren por infecciones que no responden a los medicamentos disponibles(18). La mayoría de esas defunciones se producen en países de bajos ingresos, y la situación solo puede empeorar, dado que los antibióticos útiles para el tratamiento están perdiendo eficacia debido a la aparición de bacterias resistentes. Estudios basados en datos de grandes hospitales, en los que los microorganismos desarrollan con mayor probabilidad resistencia a los antibióticos, revelan que un 40% de las infecciones en recién nacidos son resistentes a los tratamientos convencionales(19).

En países en vías de desarrollo la incidencia de sepsis neonatal se reporta de manera variable (18). En Sudamérica y el Caribe oscila entre 3.5% y 8.9%; mientras que, en otros países de Centroamérica y del Medio Oriente, se reporta una incidencia de hasta 15% como promedio (20). En México se reporta una incidencia de 4 a 15.4 % y en otros países en vías de desarrollo se informan tasas de incidencia de 15 a 30% (21).

Con respecto a Cuba, estudios realizados en diferentes provincias del país, confirman que esta entidad clínica está presente en las instituciones con servicios de neonatología (16, 22). En el Hospital Universitario América Arias de La Habana, al analizar el comportamiento de la infección neonatal en una UCIN, desde enero de 2007 hasta diciembre de 2008, entre los pacientes con prematuridad, bajo peso y crecimiento intrauterino retardado se encontró que el 72,9 % desarrolló sepsis grave (16).

Según las estadísticas, el servicio de Neonatología del Hospital “Dr. Agustino Neto” de la provincia Guantánamo, presentó en 2014 una tasa de sepsis de 4,5 por cada 100 egresados (23). Situación similar se registró en Villa Clara en 2019 donde la incidencia de esta enfermedad fue de 4,2 pacientes por 1 000 nacidos vivos y la letalidad por sepsis representó 7,14 %(24).

III.2 Costos asociados al tratamiento de infecciones neonatales

Los costos que se generan por cada uno de los eventos de infección neonatal son elevados y juegan un importante papel ya que van desgastando los programas sociales de salud en cualquier país. Uno de los rubros que incrementan los costos en los pacientes afectados de infecciones son los antibióticos, aunque estos son solo una parte, existen otros como medicamentos no antibióticos, materiales desechables, medios diagnósticos y oxígeno (25).

Estudios puntuales realizados en Cuba, al determinar los consumos en servicios de neonatología, enfatizan en el amplio uso de antibiótico en la mayoría de los neonatos ingresados con una significación importante en los costos a nivel de institución (26).

En Turquía la estadía y costos diarios disminuyen en la medida que se incrementa el peso al nacer y la edad gestacional ($p<0,05$) y se demostró que las infecciones eran uno de los determinantes más fuertes en incrementar estadía hospitalaria y gasto de recursos (27). Similar problema lo comparten otros países industrializados como Canadá en la carga que representa la prematuridad en morbilidad y utilización de insumos, pacientes en los cuales las infecciones constituyen uno de los factores que influyen en los elevados costos; que no solo se limitan al período neonatal, sino también que tienen continuidad en toda la infancia (28).

Países con menos recursos como Nigeria sufre de una manera más dimensionada los elevados niveles de consumo en la atención de salud a los niños con muy bajo peso al nacer en quienes la sepsis tiene un rol preponderante, pues 95 % de los recién nacidos de muy bajo peso son afectados por infecciones (29).

III.3 Definición y clasificación de las infecciones neonatales:

La infección neonatal se define como el proceso patológico causado por la invasión de microorganismos patógenos o potencialmente patógenos en tejidos normalmente estériles, fluidos o cavidades corporales (25). Se clasifica según el tiempo de aparición en temprana (primeras 48 a 72 horas de vida) y tardía (pasadas las primeras 72 horas de vida). A su vez, se define a la sepsis neonatal como el síndrome caracterizado por la presencia de síntomas y signos clínicos sugestivos de infección más el desarrollo de un Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS) (30).

III.4 Etiología

En el recién nacido se describen como entidades clínicas más frecuentes la septicemia, la bronconeumonía y la infección del tracto genitourinario, en particular, aquellas asociadas con el uso de catéteres y a la ventilación artificial (30). La etiología y la susceptibilidad antimicrobiana de las infecciones neonatales cambian con el tiempo y difieren entre los países, de ahí la necesidad de realizar estudios periódicos sobre dicho tema (31).

En las infecciones de inicio precoz se asocian microorganismos como *Streptococcus agalactiae* y *E. coli*, que son los que con mayor frecuencia se aíslan del recto y vagina materna al final de la gestación (32). *E. coli* es la segunda causa de sepsis bacteriana neonatal temprana, presente en 81% de los casos de recién nacidos pretérmino. Este patógeno coloniza con frecuencia la cavidad vaginal de la madre, los recién nacidos la adquieren justo antes del nacimiento (31). Otros patógenos asociados son *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, bacilos entéricos gram negativos como *K. pneumoniae* y *Enterobacter spp.*, se encuentran también otros microorganismos como *Haemophilus influenzae* (no tipificable), *Candida spp.* y *Listeria monocytogenes* (33). La frecuencia de estos gérmenes varía en relación con la presencia de factores de riesgo propios de cada paciente y antecedente de procedimientos como cerclaje, amniocentesis, cordocentesis y otros (34). Las infecciones virales, incluyendo Enterovirus, Rubéola, Citomegalovirus y Herpes Simple, también están implicadas en sepsis neonatal precoz y se deben tener en cuenta siempre como diagnóstico diferencial de la infección de origen bacteriano (33).

Durante la década del 90 del siglo pasado existía un franco predominio de las infecciones de comienzo temprano causadas por gérmenes gram positivos, en especial el *Streptococcus del grupo B*, sin embargo a partir del establecimiento de la quimioprofilaxis intraparto en las embarazadas con riesgo obstétrico, la incidencia de *Streptococcus del grupo B* disminuye de forma considerable (35). Con los grandes avances en el cuidado intensivo neonatal, encaminados a aumentar la supervivencia del recién nacido pretérmino, bajo peso y con anomalías congénitas, en los primeros años del presente siglo comenzó a cambiar la etiología de la infección neonatal, hasta llegar en este momento a un marcado incremento de los gram negativos como *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Proteus spp.* y otros (36, 37).

En los recién nacidos las infecciones de aparición tardía son un problema frecuente y grave. Se relacionan con microorganismos localizados en los servicios de neonatología que se transmiten al niño por el personal sanitario (manos contaminadas) y por el material de diagnóstico y/o terapéutico contaminado (termómetros, fonendoscopios, sondas, catéteres, electrodos, biberones, empleo de fórmulas nutricionales elaboradas sin una adecuada desinfección, intubación orotraqueal y empleo de soporte ventilatorio. Entre los principales agentes causantes de IAAS en el recién nacido, se encuentran: *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Enterococcus spp.*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* y otras bacterias gram negativas (38, 39).

III.5 Diagnóstico microbiológico de la infección del recién nacido

El diagnóstico clínico de infección en el recién nacido es difícil, pues los signos iniciales pueden ser mínimos, inespecíficos e indistinguibles de otros procesos no infecciosos. El conteo de leucocitos totales, neutrófilos y de las células inmaduras, así como los reactantes de fase aguda (proteína C y procalcitonina) son también poco específicos y requieren seguimiento y evaluación (39).

Por consiguiente, el hallazgo de microorganismos en muestras importantes como la sangre, líquido cefalorraquídeo, orina y otros constituyen hasta la fecha, la única evidencia real de infección (34). Sin embargo, son múltiples los trabajos que destacan el bajo índice de episodios confirmados(37). Las limitaciones de los recursos materiales por problemas económicos que determinan demoras e interrupciones en el diagnóstico, constituyen la causa principal de esta dificultad. No obstante, también influye la falta de estandarización de los procedimientos utilizados, la ausencia de normas y programas para el control de la

calidad en los laboratorios, la inadecuada capacitación del personal y el poco acceso a la información actualizada, esto unido regularmente, a la poca interrelación entre el laboratorio y el médico de asistencia, condiciona no pocas veces la toma de decisiones terapéuticas desacertadas y que determinan el uso inadecuado de los agentes ATMs (38, 40).

III.6 Tratamiento antimicrobiano de las infecciones neonatales

Lamentablemente, los esquemas de tratamiento aplicables al recién nacido séptico se reducen prácticamente al uso de antibióticos betalactámicos, aminoglucósidos y glucopéptidos, lo que, aparejado al frecuente desarrollo de resistencia a los medicamentos ATMs, dificulta mucho el tratamiento de estos pacientes (41).

Para iniciar tratamiento antimicrobiano (ATM) en un neonato es imperativo conocer las tasas reales de infección en las UCIN, la epidemiología local y la resistencia bacteriana que predomina en cada hospital, así como identificar los factores de riesgo de infección (31). Por la agresividad de los gérmenes y las características del paciente, en el período neonatal el tratamiento de las infecciones se inicie de forma empírica y con rapidez, siguiendo y cumpliendo las líneas establecidas. Las políticas de antibióticos en los recién nacidos están limitadas debido a las alteraciones en la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los ATMs en esta edad de la vida, hechos que condicionan el alargamiento de la semivida biológica de fármacos que puede incrementar su toxicidad (42).

Una vez que se confirma la infección por el cultivo, se debe evaluar la necesidad de colocar tratamiento específico según la sensibilidad del antibiograma, disminuyendo el espectro de acción y/o el número de fármacos. Esto provoca disminución en la presión antibiótica lo que reduce: la resistencia bacteriana, los efectos adversos y los costos. Este momento es fundamental, ya que una correcta toma de decisiones redundará en el uso racional de ATMs (42). La terapia antibiótica siempre debe iniciar si es posible después de tomar las muestras para cultivo, con la finalidad de no inhibir el desarrollo del agente causal del cuadro clínico. Ante la falla del tratamiento inicial, se debe ampliar el espectro ATM y la toma de cultivos de control. Las dosis varían de acuerdo a la edad cronológica y de gestación del neonato (43).

Hasta hace pocos años, la mayoría de los esquemas terapéuticos se iniciaban con la combinación de ampicilina y gentamicina. No obstante, a punto de partida del incremento significativo de la resistencia en *E. coli* y otras bacterias gram negativas a la ampicilina, muchos lo sustituyeron por una cefalosporina de tercera generación (cefotaxima), en combinación con gentamicina o amikacina (44). Debido a la amplia diseminación de las BLEE entre bacterias gram negativas, es poco probable que ese esquema sea más eficaz que el anterior. Sin embargo, la combinación propuesta por otros autores (amoxicilina/sulbactam más amikacina) podría ser más efectiva, al tener en cuenta la acción benéfica del sulbactam en estos casos, incluso en las infecciones por *Acinetobacter spp.* y otros BNF (45).

En las IAAS, el tratamiento empírico debe ser de amplio espectro teniendo en cuenta el mapa microbiano en cada UCIN. Dentro de los antibióticos a utilizar se encuentran los betalactámicos tipo cefalosporinas de cuarta generación (cefepima), piperacilina-tazobactam, carbapenémicos, vancomicina y aminoglucósidos, todos ellos con una indicación específica. El uso de cefalosporinas de tercera generación no está indicado para el manejo de IAAS por la probabilidad de resistencia por inducción de β -lactamasas (46).

La ausencia de alternativas terapéuticas en el manejo de las infecciones por bacterias multiresistentes en las UCIN, revelan el papel esencial de otros antibióticos más “antiguos” como fosfomicina y colistina en el tratamiento de estas patologías. La estrecha colaboración entre las sociedades científicas, autoridades sanitarias, laboratorios de investigación y la industria farmacéutica es ahora más que nunca necesaria para afrontar el reto de esta nueva era “postantibiótica” (47).

III.7 Resistencia bacteriana

Se define por resistencia bacteriana, a la condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bacteriostáticos o bactericidas de un antibiótico. Este hecho involucra necesariamente la aparición de un cambio permanente en el material genético del microorganismo, que se transmite a sus descendientes, los que por este motivo resultan también resistentes al antimicrobiano en cuestión (48).

III.8 Mecanismos de resistencia

La resistencia a los ATMs puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es previa al uso de los antibióticos, en este caso todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de ATMs y eso les permite tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir en caso que se emplee ese antibiótico. La resistencia adquirida es una característica propia de una especie bacteriana, que por naturaleza es sensible a un antibiótico pero que sufrió una modificación genética ya sea por mutación o por adquisición de genes de resistencia (plásmidos, transposones e integrones) (49).

La resistencia bacteriana tanto natural como adquirida se puede abordar desde el punto de vista molecular y bioquímico de tal forma que los principales mecanismos de resistencia bacteriana descritos son:

- ✓ Alteración del sitio blanco del antibiótico
- ✓ Alteración de barreras de permeabilidad.
- ✓ Inactivación del antibiótico (49)

III.8 a. Alteración del sitio blanco del antibiótico

La resistencia bacteriana conferida por la alteración del sitio en donde actúa el antibiótico consiste en la modificación de algunos sitios específicos de la célula bacteriana como la pared celular, la membrana celular, la subunidad 50S o 30S ribosomales, entre otras. Por ejemplo, la modificación por mutación de los genes GyrA y GyrB que codifican para las topoisomerasas II y IV respectivamente, ofrecen resistencia bacteriana a quinolonas en *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* y *E. coli* (50). En cuanto a las modificaciones a nivel ribosomal podemos mencionar los cambios que ocurren en las subunidades 30S y 50S los cuales son los sitios de acción de aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclinas y lincosamidas. Por ejemplo, la metilación del RNA ribosomal de la subunidad 50S confiere resistencia a *S. aureus* y *S. epidermidis* frente a tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. La resistencia bacteriana contra gentamicina, tobramicina y amikacina consiste en una mutación de la subunidad ribosomal 30S (50, 51).

III.8 b. Alteración en las barreras de permeabilidad

La membrana celular de las bacterias gram negativas contiene un alto contenido de lípidos con respecto a las gram positivas, presenta una membrana externa con un 40% de lipopolisacárido lo cuál le proporciona una barrera efectiva contra la entrada de

antibióticos, dependiendo de la composición química de estos. La internalización de compuestos hidrófilos se lleva a cabo por canales denominados porinas, que se encuentran en la membrana interna, estos canales están llenos de agua por lo que la penetración de los antibacterianos en este caso dependerá del tamaño de la molécula, hidrofobicidad y carga eléctrica (52).

En muchas enterobacterias una pérdida o una modificación estructural de las porinas (por mutaciones, deleciones o inserciones en los correspondientes genes estructurales o en genes reguladores de los mismos), se traducen en una disminución de la permeabilidad que afecta a un amplio número de familias de antibióticos. En *P. aeruginosa*, la pérdida de porina específica OprD (cuya función natural es facilitar la entrada de aminoácidos dibásicos y de otros compuestos), afecta de forma singular a los carbapenémicos pero no a otros betalactámicos ni otras familias) (50, 53).

En la membrana celular se encuentran las llamadas bombas de eflujo que llevan a cabo la internalización y expulsión de los ATMs. Una amplia variedad de bombas de eflujo proveen resistencia antimicrobiana tanto en bacterias gram positivas como en gram negativas (48). El eflujo activo de antibióticos es mediado por proteínas transmembranales. En el caso de las bacterias gram negativas involucra también componentes en la membrana externa y citoplasma. Estas proteínas forman canales que exportan activamente a un agente ATM fuera de la célula tan rápido como entra. Este mecanismo confiere resistencia a tetraciclinas, quinolonas, cloranfenicol, betalactámicos, así como a los antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario utilizado para la limpieza de superficies (54).

III.8 c. Inactivación del antibiótico por destrucción o modificación de la estructura química

El fenotipo de resistencia antibiótica por destrucción o modificación de la estructura química es un proceso molecular caracterizado por la producción de enzimas que van a llevar a cabo esta función. Las enzimas que destruyen la estructura química, más conocidas, son las β -lactamasas (55). Otra enzima es la eritromicina esterasa que cataliza la hidrólisis del anillo de lactona del antibiótico. Entre las enzimas que se encargan de la modificación de la estructura podemos mencionar a la cloranfenicol acetiltransferasa y también a las enzimas que modifican a los aminoglucósidos, lincosamidas y estreptograminas (acetilasas, adenilasas y fosfatasas) (53, 56).

III.9 β -lactamasas

III.9 a. Concepto

Las β -lactamasas son un grupo muy heterogéneo de enzimas de resistencia. En la actualidad hay descritas más de 700. Estructuralmente, son proteínas compuestas de hojas β plegadas y α hélices; que se encuentran en el espacio periplásmico de las bacterias gram negativas e hidrolizan el anillo β -lactámico de los antibióticos, dejando inactivo al antibiótico (57).

La producción de β -lactamasas puede ser inducible (sólo en presencia de un betalactámico), o constitutiva (aquellas que la bacteria produce en forma continua). Un ejemplo de producción β -lactamasa constitutiva es la enzima cromosómica SHV-1 de *K. pneumoniae* que interviene en la resistencia a la ampicilina y ticarcilina (58).

III.9 b. Clasificación

Debido al elevado número de β -lactamasas existentes estas se clasifican según su estructura, su función, el sustrato al que se unen, las sustancias que las inhiben, los parámetros cinéticos y según su expresión, es decir, si están codificadas en plásmidos o en el cromosoma. En el momento actual las clasificaciones vigentes son la formulada por Ambler en 1980, que se basa en la estructura molecular y la secuencia de los aminoácidos de las enzimas y la clasificación funcional propuesta por Bush-Jacoby-Medeiros en 1995 y actualizada en el 2010 (49, 51).

✓ **Clasificación molecular de Ambler:** Agrupa las β -lactamasas en cuatro clases o grupos (A, B, C y D)

1. Serin- β -lactamasas: Las enzimas de los grupos A, C y D, que contienen una serina en su centro activo e hidrolizan penicilinas, oxacilina y cefalosporinas.

2. Metalo- β -lactamasas (MBL): Enzimas del grupo B que tienen como cofactor un ión de Zinc, indispensable para actuar; estas tienen actividad sobre las penicilinas, las cefalosporinas, los carbapenémicos, pero no actúan sobre los monobactámicos (50, 59).

✓ **Clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros:** Esta clasificación las agrupa según las similitudes de las funciones de las enzimas en cuatro grupos diferentes (del 1- 4) y el grupo 2 queda dividido en 12 subgrupos (60).

1. Grupo 1: Incluye enzimas de la clase C de Ambler que hidrolizan cefalosporinas y no son inhibidas por el ácido clavulánico o tazobactam.

2. Grupo 2: Incluye enzimas de las clases A y D de Ambler que se inhiben por el ácido clavulánico.
3. Grupo 3: Incluye enzimas de la clase B de Ambler. Son MBL que requieren para actuar de la unión de Zn^{+2} a su centro activo y que se inhiben por agentes quelantes como el EDTA, pero que no se inhiben por el ácido clavulánico o por tazobactam.
4. Grupo 4: Incluido en la clasificación inicial, no aparece en la actualización del año 2009. La mayoría de las enzimas incluidas inicialmente en este grupo no están completamente caracterizadas y pueden ser clasificadas en los grupos anteriores (48, 60).

III.9 c. BLEE

Concepto: Las BLEE son enzimas que tienen capacidad de hidrolizar y causar resistencia o sensibilidad disminuida a penicilinas, oximinocefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima) y monobactámicos (aztreonam), pero no a cefamicinas (cefoxitina) ni carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem), siendo inhibidas por el ácido clavulánico (61).

Estas enzimas, pertenecen a la clase molecular A de Ambler y entre ellas se encuentran las de tipo TEM y SHV (derivadas de enzimas con menor espectro de hidrólisis), la familia CTX-M (procedente de β -lactamasas cromosómicas del género *Kluyvera*), y otras menos prevalentes como PER, VEB, BES, GES, TLA y SFO, incluidas todas ellas en el grupo funcional 2be de Bush y Jacoby (60). Algunas enzimas de la familia OXA (clase D de Ambler y grupo funcional 2de), se consideran también BLEE pero se describen con mayor frecuencia en *P. aeruginosa* (51).

III.9 c.1 BLEE de mayor importancia clínica

1. Enzimas tipo TEM: se derivaron de las β -lactamasas TEM-1 y TEM-2. La primera BLEE de esta familia es la tipo TEM-3 y los primeros reportes se remontan a 1984, en cepas de *K. pneumoniae*, en Francia. Esta se diferencia de la TEM-2 por cambios en los aminoácidos Lys→Glu en la posición 102 y Ser→Gly en la posición 236. Hasta el momento se describen 182 variantes, en la que quedan incluidas las enzimas TEM resistentes a los inhibidores (IRT, por sus sigla en inglés) y las TEM del Complejo Mutante (CMT, por su sigla en inglés), que son enzimas que combinan los perfiles de BLEE e IRT (62, 63).

2. Enzimas tipo SHV: La primera con fenotipo de BLEE fue la SHV-2, descrita en 1983 en cepas de *K. ozaenae* en Alemania; derivada de la β -lactamasa cromosomal SHV-1y se diferencia de esta por una mutación del aminoácido Gly $\rightarrow$ Ser en la posición 238. Hasta el momento se describen 134 variantes de SHV, siendo la mayoría de ellas son BLEE, aunque también existen variantes (SHV-10, 26, 49, 56 y 72) que muestran resistencia variable a inhibidores de β -lactamasas de clase A. Este tipo de BLEE también se pueden encontrar en *P. aeruginosa* y *Acinetobacter spp.* (64).

3. CTX-M: En 1989, casi de forma simultánea, en Alemania, Argentina y Francia aparecen, por primera vez, cepas de enterobacterias con elevada resistencia a cefotaxima y menor afectación de la ceftazidima, estas β -lactamasas de manera genérica se denominaron CTX-M y no guardan relación alguna con las β -lactamasas descritas hasta ese momento. En un inicio, estas enzimas, según la secuencia de aminoácidos se clasificaron en cinco grupos pero recientemente se adicionaron dos grupos más. El análisis filogenético sugiere que estas enzimas no tienen su origen en una mutación plasmídica sino que fueron incorporadas a plásmidos por movilización del gen cromosomal bla del género *Kluyvera*. Las enzimas CTX-M-14 y CTX-M-15 son de todas, las más importantes, pues se aíslan en cualquier tipo de muestra humana y ambiental alrededor del mundo entero (64, 65).

El panorama actual de las BLEE ha cambiado, pues inicialmente SHV y TEM eran las familias aisladas con mayor frecuencia y las cepas que las producían, se encontraban originando brotes hospitalarios epidémicos, pero a partir de la década del 2000 se ha visto una evolución y dispersión extraordinariamente acelerada de las enzimas CTX-M, las que no se confinan únicamente a el ambiente hospitalario sino que también se aíslan de infecciones adquiridas en la comunidad, esencialmente con infecciones urinarias (66).

III.9 d. β -lactamasas inducibles tipo AmpC

Son β -lactamasas de codificación cromosomal, conocidas como cefalosporinasas del tipo AmpC. Estas enzimas son capaces de inactivar en forma eficiente aminopenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas de distintas generaciones y cefamicinas. Son inducibles, normalmente están reprimidas, cuando se encuentran con el antibiótico betalactámico, se desreprimen y se inducen (63).

Además, por el hecho de ser inducible puede suceder con mucha frecuencia, que el mecanismo regulatorio cambie, es decir, se seleccionen mutantes que se desreprimen, lo que significa que en ausencia de betalactámicos producen β -lactamasas. Estas β -lactamasas pueden tener peldaños de producción, pueden sintetizar cantidades pequeñas, medianas o grandes, en ausencia del antibiótico, lo que puede llevar a que exista una hiperproducción de la enzima. Esto es propio de *P. aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.* y *Morganella morganii*. Estas β -lactamasas no son antagonizables por inhibidores de β -lactamasas, de manera que no sirven como tratamiento el sulbactam, el tazobactam ni el ácido clavulánico (67).

El espectro que logran estas enzimas depende de la cantidad de enzima que produzcan, si producen pequeñas cantidades destruirán cefalosporinas de primera generación. Pero si hiperproducen enzimas, pueden destruir cefalosporinas de tercera generación como la ceftazidima. En resumen, estas bacterias, por lo tanto, tienen un mecanismo para desregularse, hiperproducir y ampliar su espectro, solamente por cantidad de enzima. Lo que es característico de las especies ya mencionadas (68).

III.9 d. Carbapenemasas

Estas son enzimas capaces de hidrolizar, en dependencia de su tipo, a todos o casi todos los betalactámicos incluyendo carbapenémicos como imipenem, meropenem y ertapenem. Además, se asocian a multidrogorresistencia por lo que representan un importante riesgo sanitario en todo el mundo (69).

Se las puede dividir en propias de especie y adquiridas (potencialmente transferibles). Se encuentran asociadas a integrones, estructuras génicas que almacenan genes de resistencia, que se transmiten por plásmidos o transposones. El origen y la secuenciación nucleotídica de las carbapenemasas es muy versátil y actualmente se conocen más de 30 familias de carbapenemasas, agrupadas en las clases A, B y D de Ambler, pero nuevas familias se describen continuamente (70).

III.9 d 1. Clasificación de las carbapenemasas

Serín-carbapenemasas: β -lactamasa plasmídicas del grupo A de Ambler, son prácticamente inhibida por la acción del ácido clavulánico, e hidrolizan de forma efectiva a los carbapenémicos aunque su actividad frente a meropenem es menor que frente al imipenem. Estas pueden ser cromosómicas (NmCA, Sme, IMI-1, SFC-1) descritas en *E. cloacae* y *S. marcescens* y plasmídicas (KPC, IMI-2, GES). KPC es clínicamente la enzima más importante del grupo (71).

2. Metallo- β -lactamasa: Pertenecen al grupo B de la clasificación de Ambler, estas constituyen un importante desafío tanto para el tratamiento individual de los pacientes como para la aplicación de las políticas de control de la infección, porque estas presentan actividad frente a todos los betalactámicos excepto al aztreonam; no se inhiben por el ácido clavulánico, ni por algún otro inhibidor de β -lactamasas. Sin embargo, se inhiben por agentes quelantes de cationes divalentes como el EDTA, compuestos tiólicos como el ácido 2-mercaptopropiónico, o el ácido dipicolínico. Hasta la fecha se describen nueve MBL pero, probablemente, IMP y VIM sean las más diversificadas y prevalentes, aunque la New Delhi metallo- β -lactamasa (NDM) ha creado una importante alarma mediática debido al perfil mutirresistente o panresistente de los aislados que la producen (72).

3. Oxacilinasas (OXA): Se encuentra en el grupo D de la clasificación de Ambler, Entre ellas se destacan las variantes de los subgrupos OXA-23, OXA24, OXA-58, OXA-143 y sobre todo la OXA-48 descrita en enterobacterias en países del entorno mediterráneo. Fenotípicamente son difíciles de identificar ya que su perfil de actividad frente a los carbapenémicos es pobre y casi nulo frente a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Mantienen el perfil de sensibilidad de las OXA al ser poco inhibidas por el clavulánico, tazobactam o sulbactam; es decir son resistentes a las penicilinas y a sus asociaciones con inhibidores, mantienen la sensibilidad a las cefalosporinas y tienen pérdida de la sensibilidad a los carbapenémicos (70).

III. 9 e. Epidemiología de las β -lactamasas

En el incremento de la resistencia bacteriana intervienen un conjunto diverso de factores, incluyendo la prescripción y venta inapropiada de antibióticos, el uso de antibióticos fuera del sector de salud, sobre todo, en animales en los que se ha creado la diseminación de la resistencia, y factores intrínsecos de las bacterias por mutaciones genéticas (53).

La diseminación de enterobacterias productoras de β -lactamasas ocurre en forma alarmante entre países y continentes por lo que representa uno de los problemas de salud más relevantes. En algunas áreas excede la capacidad de manejo de los sistemas sanitarios. Las β -lactamasas son el principal mecanismo de resistencia en bacilos gram negativos y particularmente en enterobacterias y bacilos no fermentadores. El mayor problema se da a nivel nosocomial donde las cepas se transmiten de paciente a paciente y las enzimas de microorganismo a microorganismo (73) .

Los reportes sobre la difusión de β -lactamasas se comenzaron a conocer en Latinoamérica a partir de 1990, específicamente sobre las BLEE en gram negativos, algunas de estas enzimas tuvieron su origen en dicho continente. Por otro lado, la aparición y la diseminación de las carbapenemasas en enterobacterias, *Pseudomonas spp.* y *Acinetobacterspp.*, dejan pocas opciones terapéuticas debido a la multirresistencia que confieren (74). El aumento de la frecuencia de los reportes de carbapenemasas en la región de las américas, sugiere que se han propagado con éxito llegando a ser endémicas en algunos países. La producción de BLEE alcanza tasas preocupantes en Colombia, Guatemala, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile, Panamá y Brasil, en estos países según algunas investigaciones se reporta una incidencia de enterobacterias productoras de BLEE de 40 a 73% (75).

Existen reportes en Cuba sobre la presencia de bacterias productoras de β -lactamasas en instalaciones hospitalarias. La provincia Artemisa, en el período febrero 2011- julio 2013, declara una incidencia de BLEE de 77,2 % en agentes causales de infección del tracto urinario (76). En La Habana, en 2017- 2018 se detectó en *E. coli*, que 43,7 % de los aislados causantes de infecciones extraintestinales fueron productores de BLEE (77). De igual manera durante el año 2017 en el hospital Salvador Allende se detecta que Fueron productores de BLEE 46 y 50 % de aislados de *E. coli* y *K. pneumoniae*, respectivamente (78).

La incidencia de AmpC hasta el 2010 era menor que las BLEE, pero su capacidad de diseminación mediante plásmidos, cuyos genes tipo AmpC más frecuentes son gen blaCMY2 en *E. Coli* y el blaDHA-1 en *K. pneumoniae*, han hecho que la incidencia en países como Sudeste Asiático y Europa sea 12% y 10% respectivamente (79).

Desde el primer reporte de KPC en el año 1996, en Carolina del Norte, y de la identificación de NDM en el 2008 en India, la diseminación de este mecanismo de

resistencia es alarmante identificándose en Europa, Asia, Medio Oriente, América Central y del Sur, África y Oceanía. Incluso en el 2017 la OMS debido a los constantes reportes donde se evidencia un aumento de la resistencia a carbapenémicos de hasta 50% y con ello el aumento de la mortalidad, decidió publicar una lista de los patógenos considerados una amenaza para la salud humana, destacando el grupo las enterobacterias, *Pseudomonas* y *Acinetobacter* resistentes a carbapenémicos (80). En 2010 el LNR-IAAS/IPK en Cuba, realiza un reporte de alta prevalencia de carbapenemasa en aislamientos de *Acinetobacter* resistentes a carbapenémicos en pacientes atendidos en UCIN (81).

Países como India, Turquía y Grecia son considerados endémicos, presentando valores críticos, por ejemplo Grecia experimenta una de las más altas resistencias a los carbapenémicos a nivel mundial. En 2001 el sistema griego para la vigilancia de resistencia a los antimicrobianos, reporta resistencia a carbapenémicos de 30% en salas de hospitalización y 60% en UCI. Tendencia que va en aumento según datos del Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades EARS-Net del 2014, donde se evidenció que 62.3% de los aislados de *K. pneumoniae* fueron resistentes a los carbapenémicos (13, 70).

De la misma manera en India, en el 2009 en un estudio para el monitoreo de la resistencia antimicrobiana, se evidenció que 28% de los aislamientos portaban más de 1 gen de carbapenemasas; siendo el gen más común blaNDM-1. Instituciones hospitalarias en Pakistan reportan tasas de prevalencia de bacterias productoras de blaNDM en las UCI que oscilan entre 2% y 13,5% (82).

III.9 f. Definiciones de multidrogorresistencia, extremodrogoresistencia y pandrogoresistencia.

Los antibiótipos se clasifican por el número y la clase de antibióticos afectados. Según el Consenso de la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos (ReLAVRA). Se define como MDR a la ausencia de sensibilidad por lo menos a un fármaco en tres o más de las categorías de antibióticos; XDR la ausencia de sensibilidad por lo menos a un agente en todas las categorías de ATMs excepto en una o dos de ellas y PDR a la resistencia a todas las categorías de antibióticos (tabla 1) (83).

La sobreutilización de ATMs dificulta aún más el control de su uso racional y genera una nueva fuente de selección de bacterias resistentes que luego pueden diseminarse mediante los alimentos o el medio ambiente, así como colonizar el tracto digestivo de animales y seres humanos (84). Como consecuencia, nos dirigimos hacia una era similar a la preantibiótica, con infecciones bacterianas para las cuales no hay tratamiento disponible, o en la cual las alternativas están lejos de ser ideales (por ejemplo, antibióticos antiguos en desuso por su elevada toxicidad). En vista del escaso número de antibióticos nuevos en desarrollo, se vuelve fundamental la detección y monitorización de bacterias MDR para así definir acciones que mejoren el uso de los ATMs disponibles y prevenir la diseminación de patógenos resistentes (85).

IV. MATERIAL Y MÉTODO

IV. Material y Método

Durante los meses de febrero a diciembre de 2021 en el LNR-IAAS/IPK se realizó un estudio retrospectivo descriptivo de corte transversal, que incluyó aislados de bacilos gram negativos recuperados a partir de diferentes muestras clínicas, causantes de infección neonatal en algunos hospitales gineco-obstétricos y pediátricos de La Habana (Juan Manuel Márquez, William Soler Ledea, Eusebio Hernández, Hijas de Galicia, Ramón González Coro y Enrique Cabrera).

El estudio incluyó 120 aislados recibidos en el LNR-IAAS/ IPK entre septiembre 2017 y julio 2020, todos identificados a nivel de especie y que forman parte de la colección de cultivo del propio laboratorio. Se tomaron de la base de datos del LNR-IAAS, creada al efecto de la vigilancia de la resistencia en microorganismos gram negativos causantes de infección en neonatos. Las especies incluidas en el estudio fueron (61 *Escherichia coli*, 13 *Enterobacter cloacae*, 10 *Enterobacter agglomerans*, 19 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Klebsiella ornithinolytica*, 2 *Klebsiella oxytoca*, 4 *Citrobacter freundii*, 3 *Proteus mirabilis*, 3 *Serratia marcescens*, 2 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *Stenotrophomonas maltophilia*). Al estudio anterior corresponden 61 aislados (septiembre 2017- julio 2018) que contaban con el estudio de susceptibilidad antimicrobiana, 59 aislados corresponden al período agosto 2018 y julio 2020 a los cuales se les realizó el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana. Los mecanismos de resistencia fueron determinados en los aislados (septiembre 2017 y julio 2020) en los cuales al analizar la susceptibilidad antimicrobiana se detectó resistencia a betalactámicos.

Criterios de inclusión:

- ✓ Aislados viables
- ✓ No contaminados
- ✓ Que contaban con una planilla de recolección de datos microbiológicos, necesaria a los efectos de los objetivos del estudio. (Anexo1)

IV.1 Operacionalización de variables

1- Categorías clínicas de pruebas de susceptibilidad: Cualitativa nominal

Definición: Traducción de la respuesta *in vitro* de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, como factor predictivo de eficacia clínica (86).

Escala de clasificación:

- ✓ Sensible: Cuando un aislamiento bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico.
- ✓ Intermedio: Cuando un aislamiento bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a un efecto terapéutico incierto.
- ✓ Resistente: Cuando un aislamiento bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad de fracaso terapéutico.

Medida de resumen: Frecuencias absolutas y relativas.

2- Producción de BLEE: Cualitativa nominal.

Definición: Enzimas que hidrolizan penicilinas, oximino-cefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima) y monobactámicos (aztreonam), pero no las cefamicinas (cefoxitina) ni los carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem), y son inhibidas por el ácido clavulánico (76).

Medida de resumen: Frecuencias absolutas y relativas.

3- Producción de AmpC: Cualitativa nominal.

Definición: Enzimas capaces de inactivar en forma eficiente aminopenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas de distintas generaciones y cefamicinas. Con la excepción de cefalosporinas de cuarta generación (cefepima, cefpiroma) y carbapenémicos, además son resistentes a la combinación de betalactámico con inhibidores de betalactamasas, con la posible excepción de piperacilina-tazobactam (68).

Medida de resumen: Frecuencias absolutas y relativas.

4- Producción de Carbapenemasa: Cualitativa nominal.

Definición: Enzimas capaces de hidrolizar, dependiendo del tipo a todos o casi todos los antibióticos betalactámicos incluso a los carbapenémicos (80).

Medida de resumen: Frecuencias absolutas y relativas.

5- Categorización de la resistencia:

Escala de clasificación: Cualitativa nominal.

Definición:

Multidrogorresistente (MDR): Cepa no susceptible a 1 o más agentes en tres o más categorías antimicrobianas

Extremodrogorresistente (XDR): No susceptible a 1 o más agentes en todas las categorías excepto en 1 o 2 de ellas.

Pandrogorresistente (PDR): No susceptible a todos los agentes antimicrobiano

Medida de resumen: Frecuencias absolutas y relativas.

IV.2 Procedimientos que permitieron cumplimentar los objetivos trazados

Los aislados se encontraban conservados en caldo Triptona Soja (CTS) (Biolife, Italia) con glicerol (DIFCO, Alemania) al 15% a -70 °C (REVCO, EE.UU), el material biológico se transfirió a placas de agar Mc Conkey (Biolife, Italia) y se incubó a 37°C en aerobiosis durante 18 a 24 horas. Una vez que se corroboró la viabilidad y pureza del cultivo, se procedió a realizar las pruebas de susceptibilidad y estudio de mecanismos de resistencia.

IV.2 a. Estudio de susceptibilidad

Se determinó la susceptibilidad a 17 ATMs, ampicilina/sulbactam (AMS), piperacilina-tazobactam (TZP), amoxicilina/clavulánico (AUG), ceftazidima (CAZ), cefoxitín (FOX), cefotaxima (CTX), cefepime (FEP), ceftriaxona (CRO), aztreonam (ATM), meropenem (MRP), imipenem (IMI), gentamicina (CN), amikacina (AK), ciprofloxacino (CIP), levofloxacino (LEV), colistina (CS) y fosfomicina (FOS), para lo cual se empleó el método de difusión de disco Kirby- Bauer en agar Mueller-Hinton (BioCen, Cuba). Los resultados se interpretaron acorde a lo establecido en las normas del Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI, por sus siglas en inglés) de 2020 (86).

En el caso del antimicrobiano colistina al estudiar la susceptibilidad se siguieron las recomendaciones del protocolo de la red de vigilancia de la resistencia a los ATMs (WHONET- Argentina) (87).

Casa comercial: discos-CPM, Italia

Cepas controles: *E. coli* ATCC 35218 (para evaluar los discos de betalactámicos con inhibidores de β -lactamasas)

Para el resto de los discos:

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

E. coli ATCC 25922

IV.2 b. Método de difusión en agar o Bauer-Kirby

Preparación del inóculo

A partir de un cultivo puro de 18 a 24h de crecimiento en agar Mc Conkey, se preparó un inóculo de 3 mL en solución salina estéril (Quimefa, Cuba), ajustando la suspensión bacteriana hasta alcanzar una densidad óptica (Densimat, bioMérieux, Francia) correspondiente a la escala de 0,5 de la escala de Mac Farland (108- 109 UFC).

Antes de transcurrir quince minutos del ajuste del inóculo, se introdujo un hisopo estéril dentro de la suspensión bacteriana y se rotó varias veces por las paredes del tubo por encima del nivel del líquido con el fin de eliminar el exceso de inóculo. Las placas preparadas previamente con agar Mueller - Hinton (Oxoid Ltd.) fueron sembradas con el hisopo sobre la superficie del medio en tres direcciones, rotando la placa en un ángulo de 60° cada vez sin dejar zona libre, con el propósito de obtener un cultivo homogéneo. Luego de cinco minutos se depositaron los discos con la ayuda de una pinza estéril, presionándolos ligeramente sobre la superficie del agar (máximo seis discos por placa). Las placas se incubaron a 37°C en aerobiosis durante 18-24 horas, colocando las placas en grupos de cuatro y de forma invertida. Al día siguiente se midieron los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco, obteniendo la categoría de sensible(S), resistente(R) e intermedio (I), teniendo en cuenta los parámetros establecidos por el método de difusión por disco para gram negativos (86).

IV.2 c. Detección de BLEE

Se determinó en aquellos aislados que mostraron sensibilidad disminuida o resistencia a las cefalosporinas de tercera generación y al aztreonam. La confirmación del fenotipo productor de BLEE se llevó a cabo mediante el método de aproximación de discos que consistió en un antibiograma en placas de agar Mueller-Hinton (BioCen, Cuba), donde se situaron discos de CTX y CAZ a una distancia de 20-25 mm (centro a centro) de un disco de AUG (CPM, Italia) (86).

Resultado positivo: Se interpretó como positivo la ampliación del halo de inhibición de CTX y/o CAZ en la zona próxima al disco de AUG (sinergia) o la presencia de una "zona

fantasma" (inhibición del crecimiento) entre las cefalosporinas y el inhibidor. En caso de no aparecer los efectos mencionados el aislado se concluyó como no productor de BLEE.

Cepa control: *K. pneumoniae* ATCC 700603 (control positivo de BLEE).

IV.2 d. Detección de β -lactamasa tipo AmpC

Se determinó en los microorganismos que mostraron resistencia o sensibilidad disminuida a FOX. Se llevó a cabo mediante el método de discos combinados con inhibidores utilizando CTX (30 μ g) y CTX con cloxacilina (30/10 μ g) (CPM, Italia). Una diferencia ≥ 5 mm del halo de inhibición para la cefalosporina con inhibidor en comparación al halo de inhibición de la cefalosporina sola confirmó la presencia de AmpC. En los aislados donde la diferencia de los halos de inhibición no fue mayor ≥ 5 mm la prueba se consideró negativa (86).

K. pneumoniae ATCC BAA-1706 (cepa control negativo).

K. pneumoniae ATCC 700603 (cepa control positivo).

IV.2 e. Detección de Carbapenemasa

Se realizó en aquellos aislados que presentaron resistencia a IMI y/o MRP. Se llevó a cabo mediante el método de discos combinados con inhibidores, el cual consistió en un antibiograma en placas de agar Mueller-Hinton (Oxoid Ltd), donde se colocaron en la superficie discos del antimicrobiano solo y discos del antimicrobiano combinado con inhibidores (86).

Detección de carbapenemasa tipo KPC: Se emplearon discos de MRP (10 μ g) (CPM, Italia) y MRP + ácido -aminofenilborónico (PBO) (Liofilchem, Italia). Luego de 24 horas de incubación a 37°C en aerobiosis se midieron las zonas de inhibición alrededor de cada disco. Una diferencia ≥ 5 mm del halo de inhibición para MRP-PBO en comparación con el disco único se interpretó como positivo para la producción de KPC. En los aislados donde la diferencia de los halos de inhibición no fue mayor ≥ 5 mm la prueba se consideró negativa.

Cepa Control:

K. pneumoniae ATCC BAA - 1705 – MHT (cepa control positivo).

K. pneumoniae ATCC BAA - 1706 – MHT (cepa control negativo).

Detección de carbapenemasa tipo Metallo-β-lactamasa (MBL): Se emplearon discos de MRP y MRP + EDTA (Liofilchem, Italia). Luego de 24 horas de incubación a 37 °C en aerobiosis se midieron la zona de inhibición alrededor de cada disco. Una diferencia ≥ 5 mm del halo de inhibición para MRP + EDTA en comparación con el disco único se interpretó como positivo para la actividad de metallo- β-lactamasa. En los aislados donde la diferencia de los halos de inhibición no fue mayor ≥ 5 mm la prueba se consideró negativa.

Cepa Control: *Acinetobacter baumannii* DQ244 de la colección de cultivo del LNR-IAAS (cepa control positivo)

K. pneumoniae ATCC BAA - 1706 – MHT (cepa control negativo).

IV.2 f. Determinación de antibiotipos y clasificación de los aislados en multidrogorresistente, extremodrogorresistente y pandrogorresistente.

La clasificación de los aislados como MDR, XDR y PDR se hizo según los criterios del Consenso Latinoamericano de ReLAVRA 2019 (Tabla 1). Para ello se excluyeron el sulfaprim y la tigeciclina (contraindicados en el período neonatal) teniendo en cuenta que el propio consenso recomienda que la lista de antibióticos se debe adecuar a los criterios aprobados en cada país, de acuerdo a la epidemiología local, la disponibilidad o no del antibiótico y el posible uso según las características del paciente (83,42).

Tabla I. Antibióticos aprobados para la definición de multidrogorresistencia, extremodrogorresistencia y pandrogorresistencia en enterobacterias.

Enterobacterias	
DEFINICIÓN	GRUPOS DE ANTIBIÓTICOS
MDR: resistente a tres de los 12 grupos de antibióticos	1- Amoxicilina/ácido clavulánico, o ampicilina/sulbactam 2- Piperacilina/tazobactam 3- Ceftazidima, o cefotaxima/ceftriaxona, o cefepime 4- Imipenem o meropenem 5- Aztreonam 6- Gentamicina 7- Amikacina 8- Ciprofloxacino 9- Trimetoprima sulfametoxazol 10- Fosfomicina 11- Colistina 12- Tigeciclina
XDR: resistente a 10/11 de los 12 grupos de antibióticos	
PDR: resistente a 12 de los 12 grupos de antibióticos	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
MDR: resistente a 3 de los 10 grupos de antibióticos	1-Piperacilina, tazobactam 2- Ceftazidima 3- Cefepima 4- Aztreonam 5-Imipenem 6-Meropenem 7-Gentamicina 8-Amikacina 9-Ciprofloxacino o levofloxacino 10-Colistina
XDR: resistente a 8 o 9 de los 10 grupos de antibióticos	
PDR: resistente a todos los grupos de antibióticos	
<i>Acinetobacter</i> spp.	
MDR: resistente a 3 de los 11 grupos de antibióticos	1-Ampicilina-sulbactam 2-Piperacilina, tazobactam 3-Ceftazidima o cefepima 4-Imipenem o meropenem 5-Gentamicina 6-Amikacina 7-Ciprofloxacino 8-Trimetoprima-sulfametoxazol 9-Minociclina 10-Tigeciclina 11-Colistina
XDR: resistente a 9 o 10 de los 11 grupos de antibióticos	
PDR: resistente a todos los grupos de antibióticos	

IV.3 Análisis y procesamiento estadístico

Los resultados se procesaron mediante el programa estadístico SPSS versión 21 y se presentaron en gráficos y tablas de contingencia estadística. Se utilizaron medidas de estadística descriptiva como la frecuencia y el porcentaje para el análisis y la presentación de los mismos.

IV.4 Consideraciones éticas

La información que se obtuvo en el estudio se utilizó solo con fines investigativos y se mantuvo la confidencialidad por los investigadores. No fue necesaria la firma de un consentimiento informado del paciente por no proceder en este tipo de investigación.

El modelo de recolección de datos se archivó en el LNR-IAAS/IPK.

Para el trabajo en el laboratorio se tuvieron en cuenta las prácticas, procedimientos y los equipos de seguridad correspondientes al nivel de seguridad biológica II, según establece la Resolución No. 103 del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, de fecha 8 de octubre de 2006.

Se llevó a cabo una retroalimentación de los resultados con los hospitales que remitieron aislados al LNR-IAAS/IPK en la medida que se obtuvieron los mismos.

La presente investigación constituye una tarea del proyecto Fortalecimiento de la Vigilancia Nacional de la Resistencia Antimicrobiana en patógenos gram negativos causantes de IAAS y contó con la aprobación de la Comisión Científica Especializada y del Comité de Ética de la Investigación del IPK con el código CEI-IPK 30-21. (Anexos 2 y 3)

IV.5 Limitaciones del estudio

A pesar de que se constató coincidencia en tiempo y espacio de varios de las especies de los bacilos gram negativos estudiados, no se contó con las herramientas para la caracterización molecular de las β -lactamasas detectadas, por lo que no se conocen cuáles son los tipos genéticos que predominan en los servicios de Neonatología de La Habana, ni se pudo confirmar la ocurrencia de brotes.

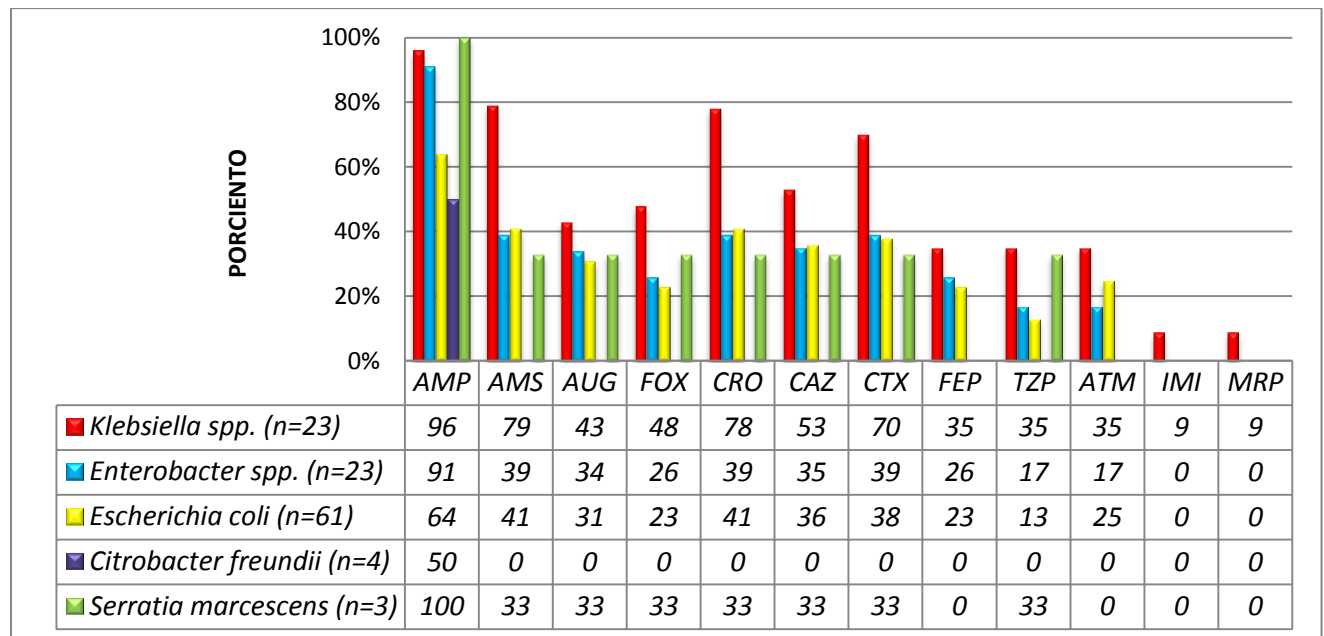
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V. Resultados y Discusión

Al ser la enfermedad infecciosa neonatal una causa importante de morbilidad y mortalidad, es imprescindible el diagnóstico efectivo, precoz y específico, así como el tratamiento ATM adecuado (88). El uso de antibióticos de amplio espectro de forma prologada se asocia a efectos adversos graves, complicaciones y a mayor resistencia antibiótica en las UCIN (89).

La resistencia antimicrobiana constituye un problema a nivel mundial y una constante preocupación de la comunidad científica internacional (55). Se han propuesto numerosas estrategias de prevención, que incluyen control estricto de los ATMs, combinaciones adecuadas y rotación de los antibióticos; no obstante en los últimos años se incrementa la aparición de microorganismos MDR, lo que conlleva a la búsqueda de nuevos antibióticos y a la recuperación de otros ya olvidados (90).

En la figura número 1 se muestra la distribución del porcentaje de resistencia a ATMs betalactámicos en las diferentes especies identificadas, calculado en base al total de microorganismos de cada especie.



AMP: ampicilina AMS: ampicilina/sulbactam AUG: amoxicilina/clavulánico FOX: cefoxitin, CAZ: ceftazidima, CTX: cefotaxima, CRO: ceftriaxona, FEP: cefepime, TZP: piperacilina/tazobactam, ATM: Aztreonam, IMI: Imipenem, MRP: meropenem

Figura 1. Porcentaje de resistencia a betalactámicos en los bacilos gram negativos identificados. La Habana, 2017-2020.

De manera general se puede apreciar que el porcentaje de resistencia para betalactámicos, que son fármacos de primera línea en el tratamiento de la infección neonatal por su escasa toxicidad y amplio espectro, estuvo por encima del 30% en la mayoría de las especies identificadas. No se muestran en la figura las especies *P. mirabilis* ni *P. aeruginosa* ya que no se detectó en las mismas resistencia a este grupo farmacológico. Se muestra la gran afectación de la actividad in vitro frente a aminopenicilinas (ampicilina, ampicilina/sulbactam) que alcanzó el 91%, 96% y 100% de aislados resistentes en los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Serratia* respectivamente. Destaca la resistencia elevada en el género *Klebsiella* de hasta 78 % para cefalosporinas de tercera generación y 35 % a cefalosporinas de cuarta generación y fue además el único género con resistencia a carbapenémicos.

Los betalactámicos, al ser el grupo de ATMs más usados en todo el mundo, aportan los mayores problemas de resistencia. La presión selectiva ejercida sobre las poblaciones microbianas con el empleo de estos medicamentos, origina un incremento de la colonización por bacterias que se vuelven paulatinamente resistentes a la terapia habitual (91). En las UCIN, el desarrollo de esta situación se favorece por un mayor uso de ATMs de amplio espectro ante la mínima sospecha de infección en el recién nacido o incluso de forma profiláctica, hecho que facilita y condiciona la diseminación por transmisión cruzada de las cepas resistentes a través de las manos del personal y del ambiente (92).

Estudios puntuales realizados en Cuba por Rodríguez y colaboradores en La Habana año 2016 (93), y más recientemente Laffita y colaboradores en Las Tunas en 2020 (94), ratifican a partir de aislamientos de enterobacterias en neonatos, elevados porcentajes de resistencia a cefalosporinas de tercera generación con cifras superiores al 40 %, siendo el género *Klebsiella* el que aporta el mayor número de aislados resistentes.

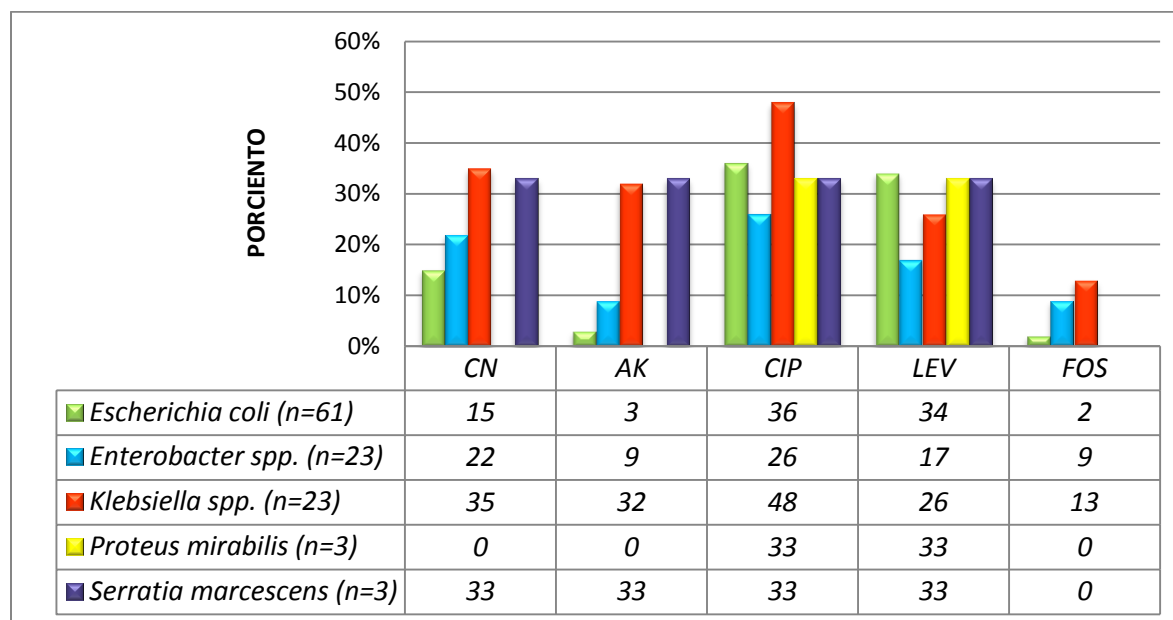
Un estudio multicéntrico en neonatos sépticos realizado en áreas urbanas y rurales de Madagascar, Senegal y Cambodia, informa que 9 de cada 10 aislamientos son resistentes a aminopenicilinas (95). Por otra parte, Rafi y colaboradores en Bangladesh (2020) notifican que el 70,6% de aislados de *K. pneumoniae* y *E. coli* son resistentes a aminopenicilinas y más del 50% a cefalosporinas de tercera generación (96).

Okomo y colaboradores realizaron un metaanálisis entre 2008 y 2018 con datos procedentes del continente africano, donde se notifica resistencia en bacterias gram negativas a los β -lactámicos recomendados por la OMS para el tratamiento empírico de la sepsis neonatal (aminopenicilinas y cefalosporinas de tercera generación) de 68% con un incremento de la misma en los últimos años (97).

Con respecto a los carbapenémicos, numerosos estudios avalan la efectividad y la buena tolerabilidad de los mismos en la población pediátrica, constituyen el tratamiento de reserva en las infecciones graves (42,43). Su amplio espectro de actividad y las características farmacocinéticas hacen que sean los antimicrobianos de elección en el tratamiento empírico de las infecciones donde se sospecha la implicación de microorganismos productores de BLEE o de AmpC y en los pacientes que han recibido previamente ATMs de amplio espectro, por la posibilidad de haber seleccionado cepas multiresistentes (70).

En la actual investigación la resistencia a carbapenémicos fue baja, solo se detectó en el género *Klebsiella*. Autores cubanos como Pino y colaboradores en Ciego de Ávila en 2013, detectan en un servicio cerrado de neonatología resistencia a Imipenem de 5,1% (98). Sin embargo autores extranjeros como Yusef y colaboradores en 2018 (99) y Ding y colaboradores en 2019 (100) reportan alta incidencia de resistencia a carbapenémicos en UCIN, por encima de 15%, hecho de gran preocupación debido a la escasez de opciones de tratamiento frente a bacterias resistentes a estos medicamentos.

En la figura 2 se muestra la distribución del porcentaje de resistencia a otros ATMs en las enterobacterias identificadas, calculado en base al total de microorganismos de cada especie, no aparecen en la figura las especies *P. aeruginosa* ni *C. freundii* ya que no se detectó en las mismas resistencia a estos grupos farmacológicos.



Leyenda: CN: gentamicina AK: amikacina LEV: levofloxacino CIP: ciprofloxacino FOS: fosfomicina

Figura 2. Porcentaje de resistencia a otros antimicrobianos en los bacilos gram negativos identificados. La Habana, 2017-2020.

Se puede apreciar que la resistencia a quinolonas, que son ATMs usados en neonatología cuando las alternativas de elección han fallado y cuando el antibiograma ofrece sensibilidad solo a este grupo farmacológico, valorando la relación riesgo beneficio (41), la resistencia estuvo por encima de 20% en la mayoría de las especies identificadas, ciprofloxacino es la de mayor afectación de la actividad in vitro.

En cuanto a los aminoglucósidos que si son alternativas de elección en el tratamiento de infecciones neonatales, usados en combinación sinérgica con los betalactámicos (42), se detectó resistencia por encima de 15% en la mayoría de las especies identificadas, con el mayor número de aislados resistentes en el género *Klebsiella*, gentamicina es la de mayor afectación de la actividad in vitro.

Los resultados del estudio son similares a los de Rodríguez y colaboradores en Cuba en 2016, informan resistencia en gram negativos de 40% a ciprofloxacino, 33% a gentamicina y 28% a amikacina (93). Autores extranjeros como Pokhrel y colaboradores en Nepal en 2018, al estudiar bacterias patógenas en neonatos infectados, notifican en las enterobacterias detectadas resistencia a aminoglucósidos por encima de 30%, llegando hasta 40% a gentamicina en la especie *K. pneumoniae* (101). Del mismo modo Samudio y colaboradores en Paraguay en 2018 informan 30% de aislados resistentes a quinolonas y amonoglucósidos (102).

Sin embargo otros autores extranjeros como Nebbioso y colaboradores en África al realizar un estudio sobre la necesidad de realizar cambios en el tratamiento empírico inicial en neonatos infectados, detectan porcentajes de resistencia a quinolonas y amonoglucósidos superiores a los detectados en el estudio actual con valores de hasta 80% de aislados resistentes (103). Estas diferencias podrían estar en relación con que en dicho estudio predominaron las infecciones de presentación tardía donde estuvieron involucrados microorganismos intrahospitalarios que por lo general ya presentan resistencia elevada a antimicrobianos debido a la sobreutilización de antibióticos que se hace en las UCIN.

En la investigación actual solo se presentó un aislado de *S. maltophilia*, en el cual no se evaluó la susceptibilidad a betalactámicos, aminoglucósidos ni a colistina, debido a que este germen presenta resistencia intrínseca a estos grupos farmacológicos (104), las alternativas de elección recomendadas frente a infecciones por este germen son las sulfamidas y las tetraciclinas, las cuales están contraindicadas en neonatos (105). De las opciones a utilizar en el manejo de este germen y que si están recomendadas en neonatología se encuentra levofloxacino (106) que afortunadamente resultó sensible.

S. maltophilia está ampliamente distribuida en el medio ambiente, ocasiona una gran diversidad de IAAS y su frecuencia en la UCI está en ascenso (104). Posee dos β -lactamasas cromosómicas, bajo número de moléculas de porinas y baja permeabilidad de la membrana externa a los antibióticos betalactámicos lo que la hacen resistente a la mayoría de estos. Además, recientemente se han descrito diversos sistemas o bombas de expulsión activa que también podrían contribuir a esta resistencia intrínseca (105).

Abbasi y colaboradores en el año 2009 y Sirvan y colaboradores en 2015, ambos en Turquía, detectan a *S. maltophilia* en varios neonatos con infección respiratoria y sepsis, el manejo antibiótico de estas infecciones se realizó con levofloxacino y la letalidad fue superior a 63% (107, 108). Lo que demuestra que el tratamiento antibiótico de infecciones por *S. maltophilia* constituye un reto (106).

Se confirmó la producción de β -lactamasas en un 38,4% del total de aislamientos clínicos, hallazgo de gran repercusión clínica, terapéutica y epidemiológica. En la figura 3 se puede apreciar el predominio de BLEE, seguido de AmpC y de MBL (31,7%; 5,0%; y 1,7% respectivamente). Estos resultados justifican claramente los elevados niveles de resistencia encontrados para los betalactámicos en el actual estudio, fundamentalmente frente a cefalosporinas de tercera generación.

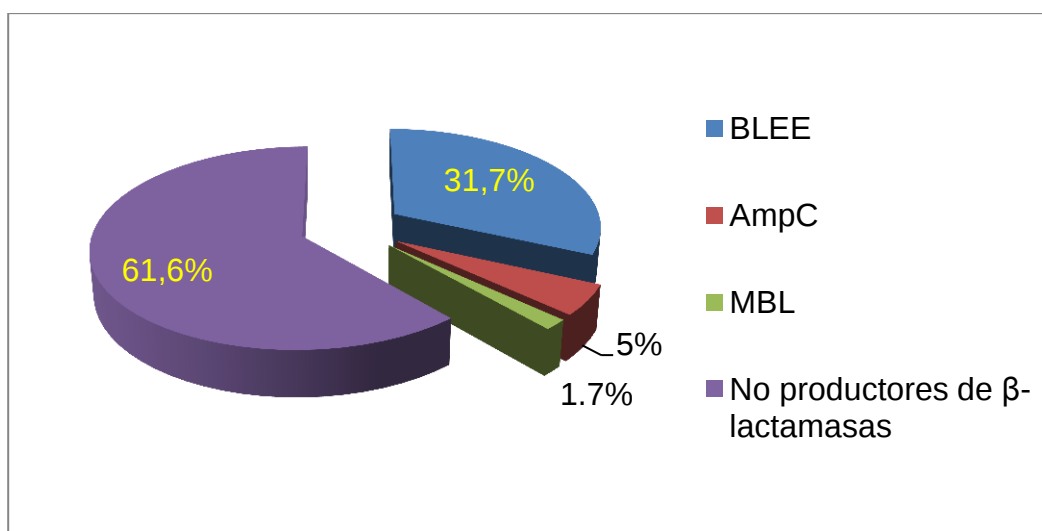


Figura 3. Distribución del porcentaje de β -lactamasas detectadas en los bacilos gram negativos identificados (n=120). La Habana, 2017-2020.

Los microorganismos gram negativos productores de β -lactamasas son responsables de infecciones intrahospitalarias graves, habitualmente en pacientes críticos, con presión antibiótica significativa, cursando muchas veces con bacteriemia; aunque naturalmente pueden producir también infecciones comunitarias y de menor gravedad (109). El perfil de multirresistencia antibiótica que expresan estos gérmenes, especialmente en el ámbito hospitalario desencadena un problema terapéutico de notables dimensiones (110). El sustrato específico de las β -lactamasas son los antibióticos betalactámicos, aunque con frecuencia expresan también resistencia a otros grupos de antimicrobianos incluidos los aminoglucósidos, quinolonas y cotrimoxazol (109, 110).

En la mayoría de los estudios cubanos publicados sobre el comportamiento microbiológico de las infecciones en neonatos a pesar de que se identifica resistencia a betalactámicos, no se puntualiza el mecanismo de resistencia al cual obedece, se plantea que dicha problemática podría estar en relación con producción de β -lactamasas (22, 98).

Por su parte Santisteban y colaboradores en la Habana, en un estudio realizado en pacientes pediátricos que incluyó neonatos, detectan producción de BLEE en gram negativos con predominio en el servicio de neonatología (111).

Los resultados del actual estudio son similares a los obtenidos por Chelliah y colaboradores en La India, al estudiar recién nacidos sépticos, informan que 33 % de las enterobacterias fueron productoras de BLEE y 6,1% productoras de AmpC (112).

Kagia y colaboradores en África subsahariana en 2019 y Zakir y colaboradores en Etiopía en 2021, enfatizan que las infecciones causadas por microorganismos productores de β -lactamasas en los recién nacidos hospitalizados constituyen un reto, cuando resaltan producción de BLEE en más de 30% de los microorganismos gram negativos identificados y 2,4% productores de carbapenemasas, lo relacionan con larga estadía hospitalaria y hacinamiento de pacientes en la UCIN (113,114).

Los resultados difieren de los obtenidos por Labi y colaboradores en 2020 en Ghana, al notificar producción de BLEE en 75,6 % y carbapenemasas en 15,6 %, cifras superiores a las del actual estudio (115). Esta diferencias podrían estar en relación con que en dicha investigación predominaron las infecciones neonatales invasivas por *Klebsiella spp.* y solo se incluyeron IAAS, hecho que reafirma que las IAAS por gram negativos constituyen un problema de salud, con altas tasas de resistencia a los ATMs.

El hallazgo de MBL en bacilos gram negativos causantes de infecciones neonatales fue un resultado notable, debido a que estas enzimas inactivan a los carbapenémicos última alternativa terapéutica para las infecciones graves en neonatos. Además su codificación plasmídica le confiere una gran capacidad de diseminación lo que facilita la producción de brotes en el entorno hospitalario (116).

En la figura 4 se muestra la distribución del porcentaje de las β -lactamasas detectadas según el microorganismo productor, el porcentaje se calculó en base al total de aislamientos en cada especie, solo se muestran en la figura *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* y *E. coli* porque solo se detectaron β -lactamasas en estos tres géneros. *Klebsiella spp.* presentó los mayores problemas de resistencia ya que 61% de los aislados fueron BLEE positivos y fue el único en producir MLB (8,7%). En *Enterobacter spp.* y *E. coli* el porcentaje de producción de BLEE fue elevado con 30 y 28% respectivamente. En cuanto al mecanismo de producción de AMPc, fue detectado en *Enterobacter spp.* (8,7%), *Klebsiella spp.* (8,7%) y *E. coli* (3,3%).

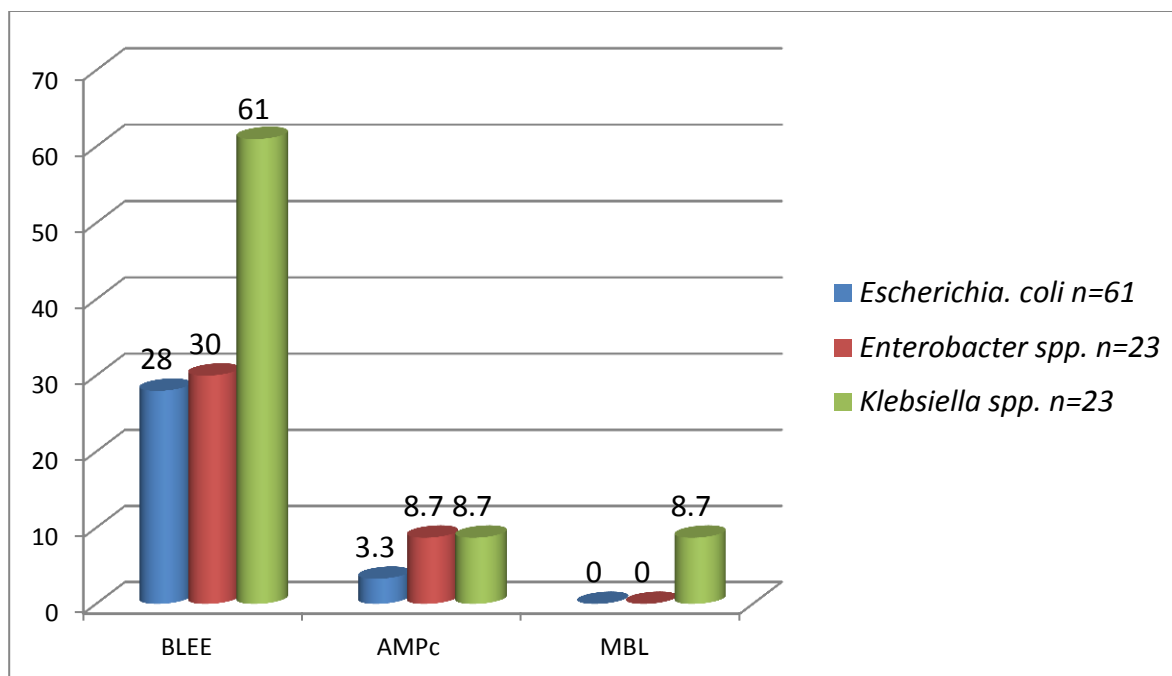


Figura 4. Distribución del porcentaje de β -lactamasas detectadas según microorganismo productor. La Habana, 2017-2020.

Los resultados mostrados en la figura constituyen hallazgos notables, ya que a nivel mundial existen estudios que reportan a *K. pneumoniae*, *Enterobacter colacae* y *Escharichia coli* como los principales agentes causales de sepsis neonatal y también son los mayores productores de β -lactamasas, lo que resalta el desafío que en la actualidad representa el tratamiento de las infecciones en el período neonatal (18).

K. pneumoniae productora de BLEE es la causa de numerosos brotes de sepsis en UCIN, despierta un interés en los últimos 10 años como patógeno causante de sepsis neonatal debido al creciente desarrollo de resistencia a carbapenémicos, se disemina de forma epidémica y los factores de riesgo para adquirirla están muy relacionados con la comorbilidad del paciente, el uso de catéter venoso y arterial, historia de tratamiento antibiótico y uso de nutrición parenteral (117). Por el contrario, *E. coli* y *Enterobacter spp.* productores de BLEE se distribuyen en forma de casos esporádicos, la comorbilidad de los pacientes, la presencia de catéter urinario y los antibióticos previos, específicamente oximino-betalactámicos y fluoroquinolonas, son los factores relacionados con la adquisición de estas cepas (118).

Enterobacter cloacae MDR se ha relacionado con brotes en UCIN, la colonización de distintos dispositivos de uso hospitalario, favorecida por su capacidad de formar biopelículas, constituye un factor de especial relevancia en la transmisión (118). La resistencia natural de este microorganismo debido a la presencia de AmpC cromosómica, así como la capacidad de adquirir BLEE plasmídicas, constituye un problema añadido en el manejo terapéutico de las infecciones por este germen (119).

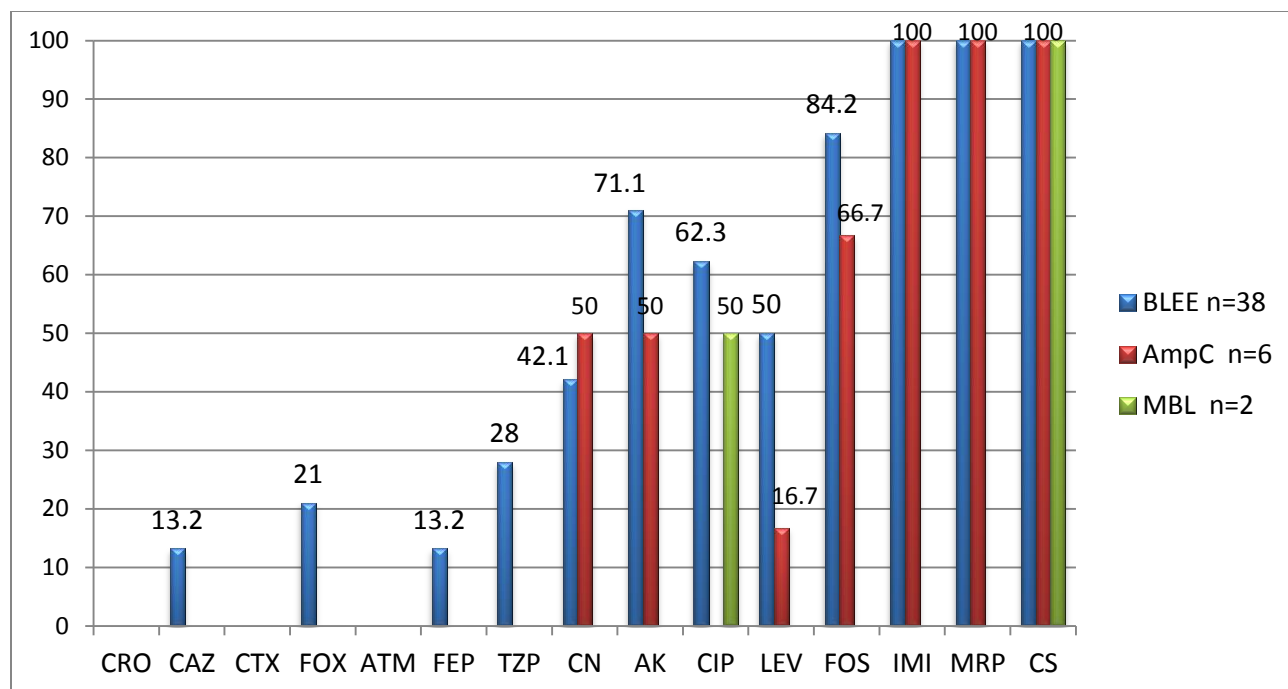
Es evidente la considerable complejidad de prevenir infecciones en el ámbito hospitalario, lo que cobra aún más importancia si tenemos en cuenta la alta morbilidad asociada. Por lo tanto, el cumplimiento de las medidas de control de infecciones, las investigaciones para determinar el origen y la calidad de los cuidados de enfermería en la UCIN, son elementos importantes en el control de posibles brotes hospitalarios (120).

Los resultados de la investigación son similares a los obtenidos por Lona y colaboradores en México, al caracterizar las β -lactamasas en enterobacterias causantes de sepsis neonatal y factores asociados, destacan que *K. pneumoniae* es la mayor productora de BLEE, seguido de *E. coli* y *Enterobacter spp.* (121).

Prada y colaboradores en España informan un brote de *K. pneumoniae* en una UCIN, donde 58,8% tuvo producción de BLEE, los factores de riesgo de mayor asociación fueron, bajo peso al nacer y estadía hospitalaria mayor a 20 días (122).

Por su parte Ding y colaboradores en 2019 en China, realizan una revisión sistemática sobre resistencia en enterobacterias causantes de sepsis neonatal, donde declaran que *K. pneumoniae* y *E. coli* tienen elevados porcentajes de BLEE, con una tendencia creciente en *Klebsiella* de hasta 64.7% y destacan además resistencia a carbapenémicos mediada por producción de carbapenemasas tipo MBL en este último género (100).

En la figura 5 se refleja la distribución del porcentaje de sensibilidad a diferentes ATMs en los bacilos gram negativos productores de BLEE, AmpC y MLB. Como se puede apreciar, los carbapenémicos y la colistina son los antimicrobianos con mayor actividad sobre las cepas productoras de BLEE y AmpC con 100% de sensibilidad. En cambio, para los dos aislados productores de MLB solo fue efectiva la colistina en el 100% de estos.



Leyenda: CRO: ceftriaxona, CAZ: ceftazidima, CTX: cefotaxima, FOX: cefoxitin, ATM: Aztreonam FEP: cefepime, TZP: piperacilina/tazobactam, CN: gentamicina, AK: Amikacina, LEV: levofloxacino, CIP: ciprofloxacino FOS: fosfomicina IMI: Imipenem, MRP: meropenem CS: Colistina

Figura 5. Sensibilidad antimicrobiana en los bacilos gram negativos productores de β -lactamasas identificados. La Habana, 2017-2020.

La mejor actividad antimicrobiana in vitro se encontró para los carbapenémicos y la colistina con 100% de sensibilidad lo cual ratifica su eficacia en el tratamiento de las infecciones graves por gram negativos productores de BLEE y AmpC. Desde la aparición de estas enzimas en la década de los ochenta, los carbapenémicos se convierten en el tratamiento de elección de las infecciones por los microorganismos que las producen. Sin embargo con la emergencia de las carbapenemasas se compromete cada vez más la efectividad terapéutica de esta familia de ATMs (123).

En cuanto a la colistina, aunque 100% de los aislados productores de BLEE, AmpC y MLB del actual estudio fueron sensibles a este ATM resalta la necesidad de mantener el uso racional de la misma, ya que en nuestro país es una de las pocas alternativas terapéutica disponible para el tratamiento de gram negativos productores de carbapenemasas (111). En Cuba otras drogas como la tigeciclina y las combinaciones de ceftazidima-avibactam y

ceftolozano-tazobactam no están disponibles (9), además tigeciclina está contraindicada en el período neonatal (41).

Fosfomicina mostró buena sensibilidad frente a los aislados BLEE (84,2%), por lo que esta resulta ser una opción de tratamiento prometedora. Ante el limitado arsenal terapéutico en el manejo de infecciones por bacterias MDR en el neonato, algunos autores han propuesto evaluar el uso de fosfomicina en tratamiento combinado (124). En la actualidad existen muy pocos datos sobre la farmacocinética de este medicamento en el recién nacido, y son necesarios estudios en prematuros para valorar el efecto de la maduración renal en el aclaramiento del fármaco, lo que podría modificar el intervalo de administración. Investigaciones publicadas sobre sepsis neonatal por gram negativos, la mayoría tratados con fosfomicina y gentamicina como tratamiento combinado señalan que el 90% de los pacientes evolucionó satisfactoriamente, sin reportar reacciones adversas (125).

Los resultados del presente estudio están en concordancia con lo que plantean Rodríguez y colaboradores en La Habana en 2016, cuando destacan en aislados de enterobacterias sensibilidad de 100% a carbapenémicos y colistina (93). Por su parte en Madagascar en 2016, Nass y colaboradores, destacan entre los aislados productores de BLEE y AmpC baja sensibilidad a cefalosporinas de tercera generación, quinolonas y aminoglucósidos, manteniendo 100% de sensibilidad a carbapenémicos (126).

En el presente estudio se realizó el análisis de los perfiles de resistencia de las enterobacterias aisladas como se muestra en la tabla 2. Estas se agruparon acorde a sus antibiotipos en 18 patrones, para un total de 48 aislados con resistencia a varios grupos farmacológicos, lo que representa el 40% del total de aislamientos. Esto permitió la clasificación de los aislados resistentes en MDR al 96% y en XDR al 4,2%, no se detectaron aislados PDR.

Tabla 2. Antibiotipo de aislados de enterobacterias multidrogorresistentes y extremadrogorresistentes (n=48). La Habana, 2017-2020.

PATRÓN	Total de aislados	ANTIBIOTIPOS											CLASIFICACIÓN
		AUG AMP AMS	CRO CAZ CTX	FEP	TZP	IMI MRP	ATM	CN	AK	CIP	FOS	CS	
1	1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	XDR
2	1	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	XDR
3	2	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	MDR
4	2	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	MDR
5	3	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	MDR
6	1	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	MDR
7	1	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	MDR
8	4	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	MDR
9	2	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	MDR
10	4	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	MDR
11	4	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	MDR
12	5	R	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	MDR
13	3	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	MDR
14	3	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	MDR
15	5	R	R	I	R	S	I	S	S	S	S	S	MDR
16	3	R	R	I	S	S	I	I	I	R	S	S	MDR
17	2	R	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S	MDR
18	2	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	MDR

Como resultado notable destaca que 100% de los aislados tuvieron un patrón de resistencia frente a aminopenicilinas y cefalosporinas de 3ra generación con resistencia simultánea en varias ocasiones a cefepime (cefalosporina de 4ta generación), aztreonam, piperacilina/tazobactam y otros grupos farmacológicos como aminoglucósidos y quinolonas. Si se tiene en cuenta que en Cuba, no se disponen de nuevas opciones terapéuticas la diseminación de estas cepas conllevará al incremento de la morbimortalidad asociadas a las infecciones bacterianas en neonatos (94).

Las bacterias MDR gram negativas son una gran preocupación en la población neonatal, son la causa de que antibióticos "superiores" o "de reserva" sean utilizados cada vez más como antibióticos de primera o segunda línea(127). Las infecciones que causan las

bacterias MDR tienen un peor pronóstico que las debidas a patógenos sensibles, lo que se debe en parte, a que los tratamientos ATMs instaurados antes de conocer datos microbiológicos que orienten o confirmen la etiología del proceso en un importante número de casos no son efectivos(128). El aumento de la resistencia antimicrobiana, unido al poco desarrollo de nuevos antibióticos (muy en especial frente a gram negativos), hace que cada vez dispongamos de menos opciones para el tratamiento de dichas enfermedades infecciosas (129).

En la última década se exhibe un aumento en la incidencia de infecciones graves causadas por bacterias gram negativas MDR. Numerosos estudios realizados a nivel mundial relacionan la multirresistencia con la presencia BLEE, AMPc plasmídicas y las carbapenemasas, aclarando que las medidas de prevención son el pilar fundamental para el control e estas infecciones (130, 131).

El fenómeno de la multirresistencia en enterobacterias relacionadas con infecciones en Cuba se documenta en una investigación previa del LNR-IAAS/IPK que incluyó varias instituciones hospitalarias del país. Por lo que, al analizar de manera conjunta los resultados del presente trabajo con lo que se viene reportando desde años anteriores hace pensar que el fenómeno de cepas MDR es una amenaza creciente en hospitales cubanos (132,133).

Por otra parte, esta es una problemática que afecta varias regiones del mundo. En Ethiopia, Solomon y colaboradores al estimar la incidencia de bacteriemia por gram negativos resistentes a antibióticos en recién nacidos con sepsis, reportan más de 88 % MDR (134).

De igual manera, Saliem y colaboradores en Egipto en 2018, reportan 68,8 % de bacilos gram negativos MDR y resaltan el desafío que esto representa para iniciar una terapia antibiótica empírica adecuada en el recién nacido (135).

En 2020 Wang y colaboradores publican una revisión sistemática sobre patógenos bacterianos asociados con las infecciones del torrente sanguíneo en neonatos, donde notifican altas tasas de bacilos gram negativos MDR y aunque recogen bajos porcentajes de aislados XDR comprueban que se debe a la producción de carbapenemasas (136).

Los resultados difieren de los reportados por Yusef y colaboradores en 2018, al reportar una cifra elevada de aislados XDR (39%). Estas diferencias obedecen a que en dicho estudio el 27% de los gram negativos aislados en la UCIN correspondió con *Acinetobacter baumannii*, un importante patógeno nosocomial que en los últimos años ha pasado a ser considerado de relevancia clínica por la adquisición de diferentes mecanismos de resistencia entre los que destaca la producción de carbapenemasas (99).

Los resultados obtenidos en la investigación dan respuesta a una de las prioridades del Programa Materno Infantil como son las infecciones neonatales y evidencian la importancia de los bacilos gram negativos como agentes etiológicos de estas entidades clínicas, debido al difícil manejo terapéutico por la multiresistencia de estos patógenos, lo que impone fortalecer el diagnóstico microbiológico rápido y la vigilancia periódica de la resistencia antimicrobiana como componente importante para guiar el tratamiento empírico en la atención neonatal e incrementar las medidas de prevención y control frente a las infecciones.

VI. CONCLUSIONES

VI. Conclusiones

1. La resistencia elevada a aminopenicilinas y cefalosporinas de tercera generación en las especies identificadas, reflejan la problemática de la resistencia en bacilos gram negativos y fomenta el uso racional de antimicrobianos como carbapenémicos, colistina y fosfomicina en el tratamiento de infecciones neonatales, a fin de evitar el incremento de la resistencia.
2. Se evidencia la circulación de aislados de bacilos gram negativos productores de β -lactamasas de tipo BLEE, AmpC y carbapenemasas, lo cual aumenta su impacto terapéutico al disminuir las alternativas de tratamiento.
3. Se demostró una baja susceptibilidad antimicrobiana entre los aislados productores de BLEE y AmpC a excepción de los carbapenémicos, lo que evidencia la eficacia de los mismos en el tratamiento de las infecciones relacionadas con estos mecanismos.
4. La circulación de enterobacterias MDR y XDR en servicios de Neonatología de La Habana, demanda un fortalecimiento de la vigilancia de la resistencia antimicrobiana, la implementación de los programas de optimización de usos de antibióticos y la disponibilidad de nuevas opciones de tratamiento.

VII. RECOMENDACIONES

VII. Recomendaciones

- Extender el estudio a otros servicios de neonatología de diferentes provincias del país en aras de lograr un conocimiento de la problemática a nivel nacional.
- Realizar la caracterización molecular de las β -lactamasas detectadas para conocer los tipos genéticos circulantes en servicios de Neonatología.
- Realizar estudios de epidemiología molecular para evaluar la relación genética entre los aislados a fin de detectar de forma precoz la aparición de brotes.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

VIII. Bibliografía

1. Toan ND, Darton TC, Boinett CJ, Campbell JI, Karkey A, Kestelyn E, et al. Clinical features, antimicrobial susceptibility patterns and genomics of bacteria causing neonatal sepsis in a children's hospital in Vietnam: protocol for a prospective observational study. *BMJ Open*. 2018;8(1):1-3.
2. Stoll B. Infecciones del recién nacido. En: Kliegman RM SB, St. Geme WJ, Schor NF, Behrman RE, editores. *Nelson Tratado de Pediatría*. Vol. 1. 19a ed. Barcelona. Elsevier; 2012. p. 659-679.
3. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock. *Intensive Care Med* . 2017;43(3):304-77.
4. Berberian G, Brizuela M, Rosanova MT, Travaglianti M. Infecciones por bacilos gram negativos multirresistentes en neonatología. *Arch Argent Pediatr*. 2019;117(1):6-11.
5. Breurec S, Bouchiat C, Sire JM, Moquet O, Bercion R, Cisse MF, et al. High third-generation cephalosporin resistant *Enterobacteriaceae* prevalence rate among neonatal infections in Dakar, Senegal. *BMC Infect Dis*. 2016;16(2):1-7.
6. Sinha AK, Murthy V, Nath P, Morris JK, Millar M. Prevention of late onset sepsis and central line associated blood stream infection in preterm infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2016;35(4):401-6.
7. Tacconelli N. Resistencia bacteriana: un problema de salud pública mundial de difícil solución. *Mem Inst Inves Cien*. 2016;14(1):4-5.
8. García T, Castillo A, Salazar D. Mecanismos de resistencia a betalactámicos en bacterias gram negativas. *Rev Cubana Salud Pública*. 2014;40(1):1-3.
9. Quiñones D. Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque "Una salud". *Rev Cubana Med Trop*. 2017;69(3):2-5.
10. Sandoval A, Aravena M, Cofré F, Delpiano L, Hernández R, Hernández M, et al. Antimicrobianos en neonatología. Parte I: Recomendaciones de dosificaciones basadas, en la más reciente evidencia en recién nacidos. *Rev Chilena Infectol* 2020; 37 (5): 490-508.

11. Anuario estadístico de salud. 2020.ISSN: versión electrónica 1561-4433.MINSAP. Dirección de registros médicos y estadísticas de salud.
12. Elizabeth López. Especialista en neonatología del Programa Materno Infantil. Ministerio de Salud pública. Comunicación personal. 2021.
13. Labi AK, Obeng NN, Bjerrum S, Enweronu LC, Newman MJ. Neonatal bloodstream infections in a Ghanaian Tertiary Hospital: Are the current antibiotic recommendations adequate?. BMC Infect Dis. 2016;16(1):598.
14. Díaz M. Microorganismos causales más comunes y factores de riesgo según la clasificación de las infecciones neonatales. Rev. cubana de pediatr. 2021;93(2):5-13.
15. Roig T, Fernández D, Barrios Y, Pérez S , editors. Síndrome séptico por bacteriemia o fungemia en neonatos, Hospital gineco-obstétrico Ramón González Coro [Internet]. Cuba: SIBEN; 2021. [citado 2022 ener 9]. Disponible en: [http://siben.net/Exposicion de posters.siben.net](http://siben.net/Exposicion_de_posters.siben.net).
16. Franco O, Aliño M. Infección neonatal: comportamiento en una unidad de cuidados intensivos. Rev Cubana Pediatr. 2010;82(4):52-61.
17. Oliva A, Carmona Y, López E, Álvarez R, Soe M, Quiñones D, et al. Characterization of Neonatal Infections by Gram-Negative Bacilli and Associated Risk Factors, Havana, Cuba. 2021 Mar; 13(1): 219–229.
18. Wen S, Ezure Y, Rolley L, Spurling G, Lau C, Riaz S, et al. Gram negative neonatal sepsis in low-and lower-middle-income countries and WHO empirical antibiotic recommendations: A systematic review and meta-analysis. PLooS Med. 2021;18(9):1-4.
19. Márquez SY, Portal ME, Alessandrini N, Crespo A. Caracterización clínico-epidemiológica del recién nacido con infección asociada a los cuidados médicos. Rev Ciencias Médicas. 2015;19(6):1028-44.
20. Mizumoto BR, Moreira BM, Santoro G. Quality of antenatal care as a risk factor for early onset neonatal infections in Rio de Janeiro, Brazil. Brazilian J Infect Dis. 2015;19(3):272-7.

21. Pérez RO, Lona JC, Quiles M, Verdugo MA, Ascencio EP, Benítez EA. Sepsis neonatal temprana, incidencia y factores de riesgo asociados en un hospital público del occidente de México. *Rev Chilena Infectol*. 2015; 32(4):387-92.
22. Pérez L, Cruz A, Piovet L, Jiménez L. Factores de riesgo y microorganismos aislados en pacientes con sepsis neonatal. *Medisur* [Internet]. 2021 [citado 2021 Mar 23]; 19(1):107-13. Disponible en: <http://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/4946>.
23. Verdecia AN, Rousseaux S, Reyes I. Riesgos maternos asociados a sepsis neonatal precoz. *Rev Inf Cient*. 2017;96(1):74-83.
24. Clemades AM, Milián A, Guerra J, Martínez Y, Kochetkova A, Kedisobua EA. Factores de riesgo perinatales en la sepsis neonatal. Estudio de tres años. *AMC*. 2019;13(1):1-3.
25. Alfonso K, Rodríguez E, Duthil S. Aspectos clínicos y epidemiológicos en pacientes con infección neonatal. *MEDISAN*. 2016;20(8):1084-6.
26. Amador MR, Labrada DA, Campo GA, Díaz AR. Costo beneficio en una unidad de cuidados intensivos neonatales. *Rev cubana Pediatr*. 2011;83(1):166-72.
27. Demir M, Salihoğlu Ö. The cost analysis of a third level neonatal intensive care unit in Istanbul. *J Harran University Medical Faculty*. 2018;15(3):116-24.
28. Johnston KM, Gooch K, Korol E, Vo P, Eyawo O, Bradt P, et al. The economic burden of prematurity in Canada. *BMC Pediatrics*. 2014;14 (2):93.
29. Lever A, Mackenzie I. Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis. *BMJ*. 2007; 335(19):879-83.
30. Simonsen KA, Anderson AL, Delair SF, Davies HD. Early-onset neonatal sepsis. *Clin Microbiol Rev*. 2014; 27(1):2147.
31. Alonso ZV, Ochoa TJ. Challenges in the diagnosis and management of neonatal sepsis. *J Trop Pediatr*. 2015;61(1):1-13.
32. Dubón GF, Flores RE, Cárcamo GA. Caracterización general de sepsis neonatal temprana. *Rev Fac Cienc Méd*. 2017;42(1):29-33.
33. Cortés JS, Fernández LX, Beltrán E, Narváez CF, Fonseca-Becerra CE. Sepsis neonatal: aspectos fisiopatológicos y biomarcadores. *MÉD UIS*. 2019;32(3):35-47.

34. Prado R, Valero C, Delgado A, Sánchez JM, Montes L, Gil F. Sepsis neonatal temprana y factores asociados. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2017;55(3):317-23.
35. Rodríguez A, Telechea H, Menchaca A. Infección grave por *Streptococo* del grupo B en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos del Centro Hospitalario Pereira Rossell entre los años 2007 y 2017. *Arch Pediatr Urug.* 2021;92(2):209.
36. Folgori L, Bielicki J, Heath P. Antimicrobial-resistant gram-negative infections in neonates: burden of disease and challenges in treatment. *Curr Opin Infect Dis.* 2017;30(3):281-288.
37. Folgori L, Bielicki J. Future Challenges in Pediatric and Neonatal Sepsis: Emerging Pathogens and Antimicrobial Resistance. *J Pediatr Intensive Care.* 2019;08(01):17-24.
38. Hamer DH, Darmstadt GL, Carlin JB, Zaidi AK, Yeboah K, Saha SK, et al. Etiology of bacteremia in young infants in six countries. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34(1):1-8.
39. Kasper DC, Mechtler TP, Böhm J, Straub J, Langgartner. Molecular Detection of Late-Onset Neonatal Sepsis in Premature Infants Using Small Blood Volumes: Proof-of-Concept. *Neonatology.* 2013;103(4):268-73. .
40. Tripathi N, Cotton C, Smith PB. Antibiotic use and misuse in the neonatal intensive care unit. *Clin Perinatol.* 2012;39(1):61-8.
41. Alemán R, Bocanegra C, Suárez C, Robledo G. Uso de antibióticos en una Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, uso terapéutico, (parte I) ¿racional o irracional? . *Rev Esp Méd Quir.* 2016;24(4):117-26.
42. Cotton CM. Antibiotic stewardship: reassessment of guidelines for management of neonatal sepsis. *Clin Perinatol.* 2015;42(1):195-9.
43. De Castro RM, Anchieta L, Silva AC, Rosado V, Clemente WT. Empirical antimicrobial therapy for late-onset sepsis in a neonatal unit with high prevalence of *coagulase-negative Staphylococcus*. *Pediatr J.* 2016;8(3):1-7.
44. Obiero CW, Seale A, Berkley JA. Empiric treatment of neonatal sepsis in developing countries. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34(6):659-61.

45. Ponce CF, Madrid WA, Pineda IJ. Agentes bacterianos en la sepsis neonatal. Cuidados Intensivos Neonatales, Hospital Mario Catarino Rivas. Acta pediátr. hondur. 2016;6(2):479-83.
46. Manet R, Poveda A, Rivero V, Roperio E. Infección hospitalaria en recién nacidos ingresados en un servicio de cuidados intensivos neonatales. Santiago de Cuba. MEDISAN. 2010;14(4):483.
47. Pintado V. Fármacos antiguos y nuevos en el tratamiento de la infección por bacterias multirresistentes. Rev Esp Quimioter. 2016;29(1):39-49.
48. Oromí J. Resistencia bacteriana a los antibióticos. Elsevier. 2000;36(10)367-370.
49. Navarro F, Miroy B M. Lectura interpretada del antibiograma de Enterobacterias. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010;28(9):638-645.
50. Cortés JA. Resistencia en enterobacterias: evolución, enzimas y ambiente. Infectio. 2011; 15(3):145-146.
51. Sánchez BP, Muñoz M R, Gutiérrez NP. Resistencia bacteriana a los antibióticos: mecanismos de transferencia. Spei Domus. 2012; 8(17):31-37.
52. Blair J, Webber M, Baylay A, Ogbolu D, Piddock L. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol. 2015;13(2):42-51.
53. Marston HD, Dixon DM, Knisely M, Palmore TN, Fauci AS. Resistencia Antimicrobiana. JAMA. 2016;316(11):1193-204.
54. Fernández I, Hancock EW. Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. Clin Microbiol Rev. 2012; 25(3):661-81.
55. Fica A. Resistencia antibiótica en bacilos gram negativos, cocáceas gram positivas y anaerobios, implicancias terapéuticas. Rev Med Clin Condes. 2014;25(3)432- 44.
56. Iredell J, Brown J, Tagg K. Antibiotic resistance in *Enterobacteriaceae*: mechanisms and clinical implications. BMJ. 2015;351(4):64-8.
57. Morejón M. Betalactamasas de espectro extendido. Rev Cubana de Medicina. 2013;52(4):272-280.
58. Calvo J. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en Gram negativos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011; 29(7):524-534.

59. Alós JI. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33(10):692-99.
60. Jacoby G, Strahilevitz J, Hooper D. Plasmid-mediated quinolone resistance. *Microbiol Spectr*. 2014;2(2):1-42.
61. Máttar S. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiología. *Infectio*. 2007; 11(1): 23-35.
62. Chong Y, Shimoda S, Shimonon N. Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Genet Evol*. 2018;61(4):185-88.
63. Song W, Bae I, Lee Y, Lee C, Lee S, Jeong S. Detection of extended-spectrum β -lactamases by using boronic acid as AmpC β -lactamase inhibitor in clinical isolates of *Klebsiella spp.* and *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol*. 2007;45(2):1180-4.
64. Gil Z, Llontop J, Alarcón E, López E. Detección de los genes SHV, TEM Y CTX-M en cepas de *Escherichia coli* con β -lactamasas de espectro extendido procedentes de un Hospital de Chiclayo - Perú. *Rev cuerpo méd*. 2014;7(3):27-9.
65. Tamma P, Rodríguez J. The use of non carbapenem β -lactams for the treatment of extended-spectrum β -lactamase infections. *Clin Infect Dis*. 2017;64(7):972-80.
66. Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26(3):744-58.
67. Derbyshire H, Kay G, Evans K, Vaughan C, Kavuri U, Winstanley T. A simple disc diffusion method for detecting AmpC and extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 63(5):497-501.
68. Mirelis B, Rivera A, Miró E, Mesa R, Navarro F, Coll P. A simple phenotypic method for differentiation between acquired and chromosomal AmpC β -lactamases in *Escherichia coli*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006;24(5):370-2.
69. Velásquez J. *Klebsiella pneumoniae* resistente a los carbapenemes. Primer caso de carbapenemasa tipo KPC en Perú. *Rev Soc Peru Med Interna*. 2013;26(4):1-5.

70. Latania K, Logan, Robert A. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: The Impact and Evolution of a Global Menace. The Journal of Infectious Diseases. 2017;215(1):28-36.
71. Bonfanti P, Bellù R, Principe L, Caramma I, Condò M, Giani T, et al. Mother-To-Child Transmission of KPC Carbapenemase-Producing *Klebsiella Pneumoniae* at Birth. Pediatr Infect Dis J. 2017;36(2):228-29.
72. Delgado C, Montenegro JJ, Chiappe A, Vargas R, Cucho C, Mamani DH, et al. *Klebsiella pneumoniae* nueva Delhi metalo-betalactamasa en el hospital nacional Dos de Mayo. Lima, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2017;34(2):261-7.
73. Crandon JL, Nicolau DP. Pharmacodynamic Approaches to Optimizing Beta-Lactam Therapy. Crit Care Clin. 2017;27(1):77-93.
74. Guzmán M, Labarca JA, Villegas MV, Gotuzzo E. Extended spectrum β -lactamase producers among nosocomial *Enterobacteriaceae* in Latin America. Braz J Infect Dis. 2014;18(4):421-33.
75. Escandón K, Reyes S, Gutiérrez S, Villegas MV. The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. Expert Rev Anti Infect Ther. 2016;20(2):1-21.
76. Argüez R. *K.pneumoniae* y *E.coli* productoras de BLEE en pacientes con ITU. Rev Cub Med Int Emerg. 2015;14(4):2-4.
77. Quiñones D, Betancourt Y, Carmona Y, Pereda N, Álvarez S, Soe M, et al. *Escherichia coli* extraintestinal, resistencia antimicrobiana y producción de betalactamasas en aislados cubanos. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2020;72(3):1-4.
78. Monté L, Martínez R. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en un hospital de La Habana. Rev Cubana de Hig y Epidemiol. 2021;58(4):412-13.
79. Chatterjee SS, Karmacharya R, Madhup SK, Gautam V, Das A. High prevalence of co-expression of newer β -lactamases (ESBL's, Ampc- β lactamases and metallo - β -lactamases) in gram -negative bacilli. Indian J Med Microbiol. 2010;28(2):267-68.

80. Bustos G, Josa D, Perea J, Gualtero S, Ortiz J, Novoa A, et al. Factores relacionados con el control exitoso de un brote por *Klebsiella pneumoniae* productora de KPC-2 en una unidad de cuidado intensivo en Bogotá, Colombia. Infectio. 2016;20(1):25-32.
81. Quiñones D, Carvajal I, Perez Y, Hart M, Perez J, Garcia S, et al. High prevalence of bla OXA-23 in *Acinetobacter spp.* and detection of bla NDM-1 in *A. soli* in Cuba: report from National Surveillance Program (2010-2012). New microbes and new infec. 2015;7(3):52-6.
82. Walsh TR, Weeks J, Livermore DM, Toleman MA. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. Lancet Infect Dis. 2011;11(2):355-62.
83. Jiménez MA, Galas M, Corso A, Hormazábal JC, Duarte Valderrama C, Salgado Marcano N, et al. Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. Rev Panam Salud Pública [Internet]. 2019 [citado 2021 Mar 13];43 (65):1-8. Disponible en: <https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.65>.
84. Van TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. Proc Natl Acad Sci USA. 2015;112(18):5649-54.
85. Tang KL, Caffrey NP, Nóbrega DB, Cork SC, Ronksley PE, Barkema HW, et al. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. Lancet Planet Health. 2017;1(8):316-27.
86. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.
87. Protocolo para determinación de sensibilidad a Colistín por el Método de Elución de discos. Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS. “Dr. Carlos G. Malbrán”. Versión 1. Julio 2017. [citado 12 oct 2021]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-CIM-microdiluci%C3%B3n-COL-version2Agosto-2017.pdf>.

88. Good P, Hooven T. Evaluating Newborns at Risk for Early onset Sepsis. *Pediatr Clin North Am.* 2019;66(2):321-31.
89. Mizumoto BR, Moreira BM, Santoro. Quality of antenatal care as a risk factor for early onset neonatal infections in Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian J Infect Dis.* 2015;19(3):272-7.
90. Berezin EN, Solórzano F. Gram-negative infections in pediatric and neonatal intensive care units of Latin America. *J Infect Dev Ctries.* 2014;8(08):942-53.
91. González L, Cortés JA. Revisión sistemática de la farmacoresistencia en enterobacterias de aislamientos hospitalarios en Colombia. *Biomédica.* 2014;34(2):180-97.
92. Villalobos AP, Barrero LI, Rivera SM, MV, Valera D. Vigilancia de infecciones asociadas a la atención en salud, resistencia bacteriana y consumo de antibióticos en hospitales de alta complejidad, Colombia. *Biomédica.* 2014;34(2):67-80.
93. Rodríguez Y, Álavarez AB, Castillo AA, López E, Rodríguez N, Del Río O. Caracterización clínica, microbiológica y epidemiológica en neonatos con infecciones relacionadas con la atención sanitaria. *Rev cubana Pediatr.* 2016;88(2):182-94.
94. Laffita R, Bello ZL, Pacheco Y, Cutié Y, Puente ST. Resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas en neonatos ingresados en el hospital provincial de Las Tunas en el 2020. *Rev electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta.* 2022;47(1): 2997.
95. Huynh T, Kermorvant DE, Chheang R, Randrianirina F, Seck A, RatsimaE, et al. Severe Bacterial infections in Madagascar, Senegal, and Cambodia: A multicentric community-based cohort study. *PLoS Med.* 2021;18(9):1-10.
96. Rafi MA, Miah MZ, Wadood MA, Hossain MG. Risk factors and etiology of Neonatal sepsis after hospital delivery: A case control study in a tertiary care hospital of Rajshahi, Bangladesh. *PLoS ONE.* 2020;15(11):2-7.
97. Okomo U, Akpalu E, Doare K, Roca A, Cousens S, Jarde A, et al. Aetiology of invasive bacterial infection and antimicrobial resistance in neonates in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis in line with the STROBE-NI reporting guidelines. *Lancet.* 2019;393(10161):1219-34.

98. Pino MS, Ojeda B, Martínez M, Broughthon J, González G, Pina A. Comportamiento de la resistencia antimicrobiana en servicio cerrado de neonatología. MEDICIEGO. 2013; 19(1):1-6.
99. Yusef D, Shalakhti T, Awad S, Algharaibeh H, Khasawneh W. Clinical characteristics and epidemiology of sepsis in the neonatal intensive care unit in the era of multi-drug resistant organisms: A retrospective review. *Pediatr Neonatol*. 2018;59(1):35-41.
100. Ding Y, Wang Y, Hsia Y, Sharland M. Systematic review of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* causing neonatal sepsis in China. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2019; 18(36):2-8.
101. Pokhrel B, Tapendra T, Shah G, Joshi S, Baral P. Bacteriological profile and antibiotic susceptibility of neonatal sepsis in neonatal intensive care unit of a tertiary hospital in Nepal. *BMC Pediatr*. 2018;18(1):1-8.
102. Samudio GC, Monzón R, Ortiz LM, Godoy GM. Sepsis neonatal tardía nosocomial en una unidad de terapia intensiva: agentes etiológicos y localización más frecuente. *Rev Chilena Infectol*. 2018;35(5):547-52.
103. Nebbioso A, Oluwakemi FO, Repetto EC, Mekiedje C, Hugues SW, Ngaya G, et al. When first line treatment of neonatal infection is not enough: blood culture and resistance patterns in neonates requiring second line antibiotic therapy in Bangui, Central African Republic. *BMC Pediatrics*. 2021;21(570):2-11.
104. Vila J, Francesc M. Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gram negativos no fermentadores. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002;20(6):304-12.
105. Sattler CA, Mason EO, Kaplan S. Nonrespiratory *Stenotrophomonas maltophilia* infection at a children's hospital. *Clin Infect Dis*. 2003;31(4):1321-30.
106. Celebi S, Kavurt S, Hacimustafaoglu M. Nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* Infections in Children: Results of a 5- Year Study. *J Pediatr Inf*. 2008;3(6):100-4.
107. Abbassi MS, Touati A, Achour W. *Stenotrophomonas maltophilia* responsible for respiratory infections in Neonatal Intensive Care Unit: Antibiotic susceptibility and molecular typing. *Pathologie Biologie*. 2009;57(4):363-7.

108. Sirvan B, Celebi S, Ozkan H, Koksall N, Salı E, Celik T, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* Outbreak in Neonatal Intensive Care Unit and Outbreak Management. J Pediatr Inf. 2015;9(3):147-52.
109. Marando R, Seni J, Mirambo MM, Falgenhauer L, Moremi N, Mushi MF, et al. Predictors of the extended-spectrum-beta lactamases producing *Enterobacteriaceae* neonatal sepsis at a tertiary hospital, Tanzania. Int J Med Microbiol. 2018;308(7):803-11.
110. Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S. Extended spectrum beta-lactamases: Definition, classification and epidemiology. Curr Issues Mol Biol. 2015;17(2):11-21.
111. Santisteban Y, Carmona Y, Pérez YC, Díaz L, García S, Kobayashi N, et al. Infecciones por los géneros *Klebsiella* y *Acinetobacter* en hospitales pediátricos cubanos y resistencia antibiótica. Rev Cubana Med Trop. 2014;66(3):400-14.
112. Chelliah A, Thyagarajan R, Radhika K, Leela KV, Babu B. Isolation of MRSA, ESBL and AmpC - β -lactamases from Neonatal Sepsis at a Tertiary Care Hospital. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2014;8(6):24-27.
113. Kagia N, Kosgei P, Ooko M, Wafula L, Mturi N, Anampiu K, et al. Carriage and Acquisition of Extended-spectrum β -Lactamase-producing *Enterobacteriaceae* Among Neonates Admitted to Hospital in Kilifi, Kenya. CID. 2019;69(5):751-59.
114. Zakir A, Regasa B, Aklilu DA, Oumer Y. Investigation of Extended-Spectrum β -Lactamase and Carbapenemase Producing Gram-Negative Bacilli in Rectal Swabs Collected from Neonates and Their Associated Factors in Neonatal Intensive Care Units of Southern Ethiopia. Infect. Drug Resist. 2021;23(14):3907-17.
115. Labi AK, Bjerrum S, Enweronu CL, Ayibor KP, Nielsen KL, Marvig R, et al. High Carriage Rates of Multidrug-Resistant gram negative Bacteria in Neonatal Intensive Care Units From Ghana. Open Forum Infect Dis. 2020;7(4):1-8.
116. Dortet L, Bréchart L, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Strategy for rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(2):2441–5.
117. Flokas ME, Karanika S, Alevizakos M, Mylonakis E. Prevalence of ESBL-Producing *Enterobacteriaceae* in Pediatric Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-Analysis. PLOS ONE. 2017;12(1):3-6.

118. Oteo J, Cercenado E, Vindel A, Bautista V, Fernández S, Sáez D, et al. Outbreak of multidrug-resistant CTX-M-15-producing *Enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care unit. J Med Microbiol. 2013;62 (3):571-5.
119. Morfín R, Mendoza S, Silva J, Rodríguez E, Laca J, Tinoco P, et al. Characterization of *Enterobacteriaceae* isolates obtained from a tertiary care hospital in Mexico, which produces extended-spectrum β -lactamase. Microb Drug Resist. 2013;19(5):378-83.
120. Mavroidi A, Liakopoulos A, Gounaris A, Goudesidou M, Gaitana K, Miriagou V, et al. Successful control of a neonatal outbreak caused mainly by ST20 multidrug-resistant SHV-5-producing *Klebsiella pneumoniae*, Greece. BMC Pediatr. 2014;17(2):105.
121. Lona JC, Pérez RO, Rodríguez V, Cordero A, Gómez LM, Llamas L. Prevalencia de β -lactamasas de espectro extendido en enterobacterias causantes de sepsis neonatal y factores asociados. Rev Chilena Infectol. 2019;36(4):433-41.
122. Prada M, Martínez C, Santos G, Morán P, Fernández A, Costa M. Brote de *Klebsiella pneumoniae* productora de β -lactamasas de espectro extendido en una unidad de cuidados intensivos neonatales: factores de riesgo y medidas de prevención clave para su erradicación en tiempo récord. An Pediatr (Barc). 2019;91(1):13-20.
123. Sola A, Mir R, Lemus L, Fariña D, Ortiz J, Golombek S. Suspected Neonatal Sepsis: Tenth Clinical Consensus of the Ibero-American Society of Neonatology (SIBEN). NeoReviews. 2020;21(8):505-23.
124. Cailles B, Vergnano S, Kortsalioudaki C, Heath P, Sharland M. The current and future roles of neonatal infection surveillance programmes in combating antimicrobial resistance. Early Hum Dev. 2015;91(11):613-18.
125. Baquero F, Rosal T. Fosfomicina en el ámbito pediátrico: Evidencia y posibles indicaciones. Rev Esp Quimioter. 2019;32(1):55-61.
126. Naas G, Cuzon A, Robinson L, Andrianirina Z, Imbert P, Ratsima E, et al. Neonatal infections with multidrug-resistant ESBL-producing *E. cloacae* and *K. pneumoniae* in Neonatal Units of two different Hospitals in Antananarivo, Madagascar. BMC Infectious Diseases. 2016;16(275):1-10.

127. Moya V, Díaz M, Ibáñez A, Suárez P, Martínez V, Ordóñez FA, et al. Patrón de aislamiento bacteriano y sensibilidad antimicrobiana en urocultivos positivos obtenidos de una población pediátrica. *Rev Esp Quimioter*. 2016;29(3):146-50.
128. Lindsay A, Henig O, Twisha P, Jason M, Keith S. Overview of meropenem vaborbactam and newer antimicrobial agents for the treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2018 [citado 27 de enero 2022];11:1461-72. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30254477>. .
129. Medina J, Guerra S. Infecciones hospitalarias por bacilos gram negativos multirresistentes: Diagnostico, tratamiento y medidas de prevencion. *Femi Cocemi* [Internet]. 2012 [citado 16 de enero 2021];5(2):40-52. Disponible en: https://www.cocemi.com.uy/docs/ManualBGN2012_COCEMI.pdf. .
130. González M. Resistencia antimicrobiana, una amenaza mundial. *Rev Cubana de Pediatr* [Internet]. 2013 [citado 22 de enero 2021];85(4):414-17. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312013000400001&nrm=iso.
131. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug - resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(3):268-81.
132. Quiñones D, Carmona Y, Zayas A, Capote M, Salazar D, García S, et al. Resistencia antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Klebsiella spp.* y producción de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales de Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical* [Internet]. 2014 [citado 25 de diciembre 2021];66(3):386-99. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602014000300007.
133. Zayas A. Caracterización microbiológica de *Klebsiella spp.* aislada en hospitales cubanos. [Tesis Maestría], Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"; 2012.
134. Solomon S, Akeju O, Odumade OA, Ambachew R, Gebreyohannes Z, VanWickle K, et al. Prevalence and risk factors for antimicrobial resistance among newborns with gram-negative sepsis. *PLoS ONE*. 2021;16(8):1-9.

135. Seliem WA, Sultan AM. Etiology of early onset neonatal sepsis in neonatal intensive care unit – Mansoura, Egypt. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*. 2018;11(3):323-330.
136. Wang J, Zhang H, Yan J, Zhang T. Literature review on the distribution characteristics and antimicrobial resistance of bacterial pathogens in neonatal sepsis. *J Matern Fetal Neonatal*. 2020;26(1):1-10.

ANEXOS

Anexo 1. Planilla de recogida de datos clínicos/ microbiológicos, sobre el comportamiento de la infección neonatal por patógenos gram negativos en La Habana, 2017-2020. (Para ser llenada en los hospitales participantes en el estudio)

1. Hospital: _____
2. Fecha: _____
3. No. HC: _____
4. Nombre y apellidos: _____
5. Diagnóstico clínico del neonato:

6. Tipo de muestra: _____
7. Germen identificado: _____
8. Susceptibilidad antimicrobiana:
Sensible: _____
Intermedio: _____
Resistente: _____
9. Otros datos de interés: _____

Anexo 2. Aval de la Comisión Científica Especializada de Microbiología emitido a favor del estudio "Resistencia antimicrobiana y detección de β -lactamasas en bacilos gram negativos causantes de infecciones neonatales en La Habana. 2017-2020.



INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL PEDRO KOURÍ (IPK)
**AVAL DE LA COMISIÓN CIENTÍFICA
ESPECIALIZADA DE MICROBIOLOGÍA**

Por este medio se hace constar que la Comisión Científica Especializada de Microbiología (CCEM), como órgano asesor científico-técnico del Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK), ha aprobado la propuesta de Protocolo de trabajo de terminación de la Maestría en Bacteriología-Micología titulada: **Susceptibilidad antimicrobiana y detección de β -lactamasas en bacilos Gram-negativos causantes de infecciones neonatales en La Habana. IPK, 2017-2020**, de la Dra. Arlenis Oliva Falcón, tutelada por la Dra. Dianelys Quiñones Pérez, Dr. C. y la Dra. Yenisel Carmona Cartaya, M. Sc. El mismo tributa al proyecto fortalecimiento de la vigilancia nacional de la resistencia antimicrobiana en patógenos gram negativos causantes de IAAS y contó con la aprobación de la Comisión Científica Especializada y del Comité de Ética de la Investigación del IPK con el código CEI-IPK 39-17 (responsable Dra. Dianelys Quiñones Pérez, Dr. C).



Dra. María Teresa Ilhail Zaragoz, Dr C
Presidente CCEM, IPK

La Habana, 25 de noviembre, 2021

Anexo 3. Aval de la Comisión Científica Especializada de Microbiología emitido a favor del estudio "Resistencia antimicrobiana y detección de β -lactamasas en bacilos gram negativos causantes de infecciones neonatales en La Habana. 2017-2020.



**COMITÉ DE ETICA DE LA INVESTIGACIÓN
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"
PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN CEI-IPK 30-21**

“Susceptibilidad antimicrobiana y detección de β -lactamasas en bacilos gram-negativos causantes de infecciones neonatales en La Habana. IPK 2017-2020”

INVESTIGADOR PRINCIPAL

Dra. Arlenis Oliva Falcón

Después de realizada la valoración y análisis correspondiente al presente documento por los integrantes del Comité de Ética de la institución, siguiendo las guías internacionales de trabajo de estas comisiones de la Organización Mundial de la Salud, emitimos el siguiente:

DICTAMEN

1. El documento presentado se ajusta a los principios establecidos por la Declaración de Helsinki así como a las normas y criterios éticos establecidos en los códigos nacionales de ética y regulaciones legales vigentes en Cuba.
2. En el protocolo aparecen reflejados de forma clara los aspectos éticos que se ajustan al tipo de investigación propuesta.
3. **APROBADO**, el documento presentado.

Dado, en el IPK, La Habana, a los 12 días del mes de enero de 2022

DrCs. Eric Martínez Torres
Presidente CEI-IPK