



**UNIVERSIDAD  
DE ANTIOQUIA**

**Colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos y su efecto en el desarrollo de bacteriemia en una cohorte de pacientes dependientes de hemodiálisis**

Johanna Marcela Vanegas Múnera

**Estudiante**

Judy Natalia Jiménez Quiceno MSc, PhD

**Directora**

Difariney González Gómez MSc, PhD

Helena del Corral Londoño MSc, PhD

Gustavo Roncancio Villamil MD, MSc

**Comité tutorial**

Tesis doctoral para optar al título de

Doctora en Epidemiología

Facultad Nacional de Salud Pública Héctor Abad Gómez

Universidad de Antioquia

Medellín, 20 de marzo de 2020



## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN.....</b>	<b>9</b>
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>12</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>16</b>
<b>3. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....</b>	<b>18</b>
3.1. TRATAMIENTO DE REEMPLAZO RENAL CON DIÁLISIS .....	18
3.1.1. <i>Hemodiálisis</i> .....	18
3.1.2. <i>Diálisis peritoneal</i> .....	20
3.2. ANTIBIÓTICOS BETALECTÁMICOS Y RESISTENCIA EN BACTERIAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA.....	20
3.2.1. <i>Resistencia a betalactámicos en bacilos Gram negativos</i> .....	22
3.2.2. <i>Resistencia a betalactámicos en Staphylococcus aureus</i> .....	24
3.2.3. <i>Impacto clínico de la resistencia a betalactámicos</i> .....	25
3.3. INFECCIONES BACTERIANAS EN LOS PACIENTES EN HEMODIÁLISIS.....	25
3.3.1. <i>Infecciones por Staphylococcus aureus</i> .....	26
3.3.2. <i>Infecciones por bacilos Gram negativos</i> .....	27
3.4. LA COLONIZACIÓN BACTERIANA COMO UN FACTOR DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN.....	27
3.5. FACTORES ASOCIADOS CON LA COLONIZACIÓN Y CON EL DESARROLLO DE INFECCIONES BACTERIANAS.....	31
3.5.1. <i>Del individuo</i> .....	31
3.5.2. <i>Del ambiente residencial</i> .....	31
3.5.3. <i>Del entorno hospitalario</i> .....	32
3.5.4. <i>De la unidad renal</i> .....	33
3.6. PREVENCIÓN DE LA COLONIZACIÓN Y DE LAS INFECCIONES BACTERIANAS EN LOS PACIENTES EN HEMODIÁLISIS .....	34
3.7. UTILIDAD DE LA EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR EN EL ESTUDIO DE LA DISEMINACIÓN BACTERIANA.....	35
3.7.1. <i>Electroforesis en gel de campo pulsado</i> .....	35
3.7.2. <i>Tipificación de la proteína A</i> .....	36
3.7.3. <i>Tipificación de secuencias intergénicas repetidas</i> .....	36
3.7.4. <i>Tipificación de secuencias de múltiples locus</i> .....	37
3.8. SITUACIÓN LOCAL Y NACIONAL .....	37
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>41</b>
4.1. OBJETIVO GENERAL .....	41
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
<b>5. HIPÓTESIS CONCEPTUAL.....</b>	<b>43</b>
<b>6. METODOLOGÍA GENERAL.....</b>	<b>44</b>
6.1. TIPO DE ESTUDIO .....	44
6.1.1. <i>Estudio de cohorte con medidas repetidas</i> .....	44
6.1.2. <i>Estudio de cohorte prospectiva</i> .....	46
6.2. POBLACIÓN.....	47
6.3. SITIO DE ESTUDIO .....	47
6.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN .....	48
6.4.1. <i>Criterios de inclusión</i> .....	48

6.4.2. Criterios de Exclusión .....	48
6.5. TAMAÑO DE LA MUESTRA .....	48
6.6. MUESTREO Y PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN .....	49
6.7. FUENTES DE INFORMACIÓN Y PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN CLÍNICA .....	50
6.8. TOMA DE MUESTRAS .....	50
6.9. TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS .....	51
6.10. CULTIVO Y AISLAMIENTO MICROBIOLÓGICO .....	51
6.11. IDENTIFICACIÓN BACTERIANA Y PRUEBAS DE SENSIBILIDAD .....	52
6.11.1. Confirmación molecular de especie y resistencia a metilina en <i>S. aureus</i> .....	52
6.11.2. Detección fenotípica y molecular de betalactamasas en bacilos Gram negativos.....	52
6.12. TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE LOS AISLADOS BACTERIANOS .....	52
6.13. PRUEBA PILOTO .....	53
6.14. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS .....	54
6.15. CONTROL DE CALIDAD .....	54
6.16. CONTROL DE SESGOS .....	55
6.16.1. Control de sesgos de selección.....	55
6.16.2. Control de sesgos de información .....	56
6.17. DISPOSICIONES VIGENTES Y CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	57
<b>7. RESULTADOS.....</b>	<b>60</b>
CAPÍTULO 1: DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS BASALES SEGÚN EL ESTADO DE COLONIZACIÓN .....	62
CAPÍTULO 2: COMPORTAMIENTO Y FACTORES ASOCIADOS CON LA COLONIZACIÓN POR <i>S. AUREUS</i> .....	89
CAPÍTULO 3: COMPORTAMIENTO Y FACTORES ASOCIADOS CON LA COLONIZACIÓN POR BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES A BETALACTÁMICOS .....	116
CAPÍTULO 4: ASOCIACIÓN ENTRE LA COLONIZACIÓN POR BACTERIAS SENSIBLES Y RESISTENTES A BETALACTÁMICOS Y EL DESARROLLO DE BACTERIEMIA.....	147
<b>8. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES FINALES.....</b>	<b>172</b>
<b>9. RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS.....</b>	<b>176</b>
9.1. RECOMENDACIONES .....	176
9.2. PERSPECTIVAS .....	177
<b>10. ARTÍCULOS DERIVADOS DEL TRABAJO DE TESIS .....</b>	<b>179</b>
<b>11. PRESENTACIONES EN EVENTOS CIENTÍFICOS Y OTROS .....</b>	<b>180</b>
<b>12. ACTIVIDADES DE APROPIACIÓN SOCIAL DEL CONOCIMIENTO.....</b>	<b>182</b>
<b>13. CURSOS, PASANTÍAS, ENTRENAMIENTOS Y RECONOCMIENTOS.....</b>	<b>183</b>
<b>14. REFERENCIAS.....</b>	<b>184</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>196</b>
ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	196
ANEXO 2: FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN .....	202
ANEXO 3: DEFINICIÓN DE TÉRMINOS UTILIZADOS EN EL FORMULARIO.....	210
ANEXO 4: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	218
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>234</b>

## LISTA DE TABLAS

### MARCO TEÓRICO

- Tabla 1. Estudios que han evaluado la colonización y el desarrollo de infecciones bacterianas en los pacientes en hemodiálisis

### METODOLOGÍA

- Tabla 2. Cálculo de la potencia estadística con diferentes tamaños de muestra y medidas de efecto

### CAPÍTULO 1

- Table 1. Epidemiological characteristics of hemodialysis patients according to colonization status by *S. aureus*
- Table 2. Epidemiological characteristics of hemodialysis patients according to colonization status by ESBL-producing Gram-negative bacilli
- Table 3. Clonal complex (CC) and spa types most frequent among *S. aureus* isolates colonizing hemodialysis patients

### CAPÍTULO 2

- Table 1. Baseline characteristics of hemodialysis patients according to colonization status by *S. aureus*
- Table 2. Univariate and multivariate analysis for identification of factors associated with colonization by *S. aureus*

### CAPÍTULO 3

- Table 1. Univariate and multivariate analysis for identification of factors associated with colonization by ESBL-producing Gram-negative bacilli in hemodialysis patients



## CAPÍTULO 4

- Table 1. Clinical characteristics in hemodialysis patients using time-dependent and Poisson analysis
- Table 2. Univariate analysis of *S. aureus* and ESBL-GNB colonization and risk of bacteremia in hemodialysis patients
- Table 3. Multivariate analysis of *S. aureus* and ESBL-GNB colonization and risk of bacteremia in hemodialysis patients

## LISTA DE FIGURAS

### MARCO TEÓRICO

- Figura 1. Diseminación de bacterias resistentes entre la unidad renal, el hospital y la comunidad

### METODOLOGÍA

- Figura 2. Diseño cohorte con medidas repetidas para la evaluación de factores asociados con el cambio de la colonización en el tiempo
- Figura 3. Diseño de cohorte prospectivo para la evaluación de la asociación entre colonización y bacteriemia
- Figura 4. Diagrama causal de la asociación entre la colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos y el desarrollo de bacteriemia

### CAPÍTULO 1

- Figure 1. Colonization by *S. aureus* and ESBL-producing Gram-negative bacilli according to hemodialysis time
- Figure 2. Resistance mechanisms to beta-lactam antibiotics in Gram-negative bacilli isolated from hemodialysis patients
- Figure 3. Genetic relatedness of *S. aureus* isolates colonizing hemodialysis patients.
- Figure 4. Genetic relatedness using ERIC of ESBL-producing Gram-negative bacteria colonizing hemodialysis patients

### CAPÍTULO 2

- Figura 1. Flowchart illustrating inclusion of patients and follow-up
- Figura 2. Classification of colonization by *S. aureus* in patients with three screenings performed
- Figura 3. Spa types and clonal complex among MSSA and MRSA isolates colonizing hemodialysis patients
- Figura 4. Genetic relatedness in *S. aureus* isolates colonizing persistent carriers
- Figura 5. Clonal complex (CC) among MSSA and MRSA isolates colonizing hemodialysis patients

### **CAPÍTULO 3**

- Figure 1. Flowchart illustrating inclusion of patients and colonization screening times
- Figure 2. Frequency of extended-spectrum beta-lactamases among *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp isolates colonizing hemodialysis patients
- Figure 3. Resistance percentages among ESBL-producing and carbapenem-resistant Gram-negative bacilli colonizing hemodialysis patients
- Figure 4. Dynamics of the colonization by ESBL-GNB and CAR-GNB in hemodialysis patients with three screenings performed
- Figure 5. Genetic relationship of *E. coli* isolates colonizing persistent carriers using ERIC

### **CAPÍTULO 4**

- Figure 1. Flowchart illustrating inclusion of patients and follow-up
- Figure 2. Bacteria isolated from blood cultures in hemodialysis patients
- Figure 3. Kaplan-Meier curves for estimation of percentages remaining bacteremia-free at different times from baseline
- Figure 4. Genetic relatedness isolates colonizing and causing bacteremia in hemodialysis infection

## **LISTA DE ANEXOS**

ANEXO 1: Consentimiento informado

ANEXO 2: Formulario de recolección de información

ANEXO 3: Definición de términos utilizados en el formulario

ANEXO 4: Operacionalización de variables

## ABREVIATURAS

**SARM:** *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

**SASM:** *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina

**BLEE:** betalactamasas de espectro extendido

**SARM-AH:** *Staphylococcus aureus* asociado al hospital

**SARM-AC:** *Staphylococcus aureus* asociado a la comunidad

**CC:** del inglés clonal complex

**MIC:** del inglés minimum inhibitory concentration

**UPGMA:** del inglés Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages

**MRSA:** del inglés methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

**MSSA:** del inglés methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*

**GNB:** del inglés Gram negative bacilli

**ESBL:** del inglés extended-spectrum beta-lactamases

**ESBL-GNB:** del inglés ESBL-producing Gram negative bacilli

**CAR-GNB:** del inglés carbapenem-resistant Gram negative bacilli

**CLSI:** del inglés Clinical and Laboratory standards Institute

**ICU:** del inglés intensive care unit

**CDC:** del inglés Centers for Disease Control and Prevention

**PFGE:** del inglés pulsed-field gel electrophoresis

**GEE:** del inglés generalized estimating equation

**MLST:** del inglés multilocus sequence typing

**ERIC:** del inglés enterobacterial repetitive intergenic consensus



## RESUMEN

Los pacientes con enfermedad renal crónica en hemodiálisis son un grupo particularmente afectado por el desarrollo de infecciones bacterianas con porcentajes que exceden los reportados en la población general y en otros grupos de enfermos. Estudios previos han sugerido una asociación entre la colonización bacteriana y el desarrollo de infecciones en este grupo de pacientes; situación que se complica por la emergencia de bacterias con mecanismos de resistencia a antibióticos de amplio uso como los betalactámicos, dada la limitación de opciones de tratamiento disponibles.

El objetivo de este estudio fue analizar el comportamiento en el tiempo de la colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos, sus factores asociados y su efecto en el desarrollo de bacteriemia en una cohorte de pacientes dependientes de hemodiálisis. Todo lo anterior siguiendo un enfoque de epidemiología molecular, que combina la epidemiología tradicional con técnicas de biología molecular para un mayor refinamiento y entendimiento de las preguntas que surgen alrededor de las enfermedades infecciosas.

Para cumplir con el objetivo planteado, se realizó un estudio de cohorte con medidas repetidas y otro de cohorte prospectiva en los cuales se incluyeron pacientes en hemodiálisis con catéter venoso central en una unidad renal de Medellín. En el estudio de cohorte con medidas repetidas se analizó el comportamiento en el tiempo de la colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos y sus factores asociados. Por otra parte, en el estudio de cohorte se analizó el efecto de la colonización en el desarrollo de bacteriemia; considerando no solo el tiempo hasta la primera infección, sino la recurrencia de bacteriemia por cada paciente. Las bacterias evaluadas fueron *Staphylococcus aureus* (sensible y resistente a meticilina) y bacilos Gram negativos resistentes a carbapenémicos o a cefalosporinas de tercera generación (productores de betalactamasas de espectro extendido).

Estudio de cohorte con medidas repetidas: La colonización por *S. aureus* sensible y resistente a meticilina fue evaluada en fosas nasales y piel (alrededor del catéter). Por su parte, la colonización por bacilos Gram negativos resistentes a carbapenémicos y a cefalosporinas de tercera generación fue determinada en materia fecal. Las evaluaciones fueron realizadas en tres momentos del tiempo (al inicio del estudio, dos y seis meses después) y los pacientes con las tres tamizaciones completas fueron clasificados con

colonización ausente, intermitente o persistente. Para la identificación de factores asociados con el cambio de la colonización en el tiempo, se utilizó un modelo GEE (del inglés generalized estimating equations).

Estudio de cohorte prospectiva: En segundo lugar, el efecto de la colonización sobre el desarrollo de bacteriemia fue analizado durante un seguimiento de 12 meses en el que se evaluaron como desenlaces el tiempo hasta la primera bacteriemia y el número de infecciones presentadas por cada paciente. Para lo anterior se utilizó un modelo de Cox para covariables dependientes del tiempo y un modelo de Poisson con ajuste de clúster, respectivamente. Los métodos de tipificación molecular incluyeron PFGE (del inglés pulsed-field gel electrophoresis), la tipificación de la proteína A (spa typing), ERIC (del inglés enterobacterial repetitive intergenic consensus) y MLST (del inglés multilocus sequence typing)

En total se ingresaron 210 pacientes al estudio, de todos ellos se obtuvieron muestras de fosas nasal y piel en la tamización inicial, pero 165 entregaron muestra de materia fecal. En esta primera tamización, el porcentaje de colonización por bacilos Gram negativos resistentes a cefalosporinas de tercera generación productores de betalactamasas de espectro extendido fue mayor en comparación con el porcentaje observado para *S. aureus* (41.2% vs. 33.8%, respectivamente). La colonización por bacilos Gram negativos resistentes a carbapenémicos fue encontrada en 11.5% de los pacientes. La utilización de ERIC y PFGE evidenció la circulación de diferentes clones colonizantes descartando la diseminación horizontal (paciente-paciente) en la unidad renal; aunque se identificaron algunos casos que compartían el mismo aislado bacteriano.

En el caso de *S. aureus*, se completaron tres tamizaciones en 141 pacientes y el análisis del comportamiento de la colonización en el tiempo evidenció que la mayoría de los pacientes estuvieron colonizados de manera intermitente (77.8%). La utilización de PFGE y la tipificación de la proteína A mostró alta frecuencia de recolonización por nuevos clones (33.3%), aún en pacientes colonizados de manera persistente. Como factores de riesgo se identificaron el tabaquismo actual (OR:7.22, 95%IC: 2.24-23.27), el índice de Charlson (OR:1.22, 95%IC: 1.03-1.43) y el antecedente de infección por *S. aureus* en los últimos seis meses (OR:2.41, 95%IC: 1.09-5.30).

En relación con la colonización por bacilos Gram negativos resistentes, se completaron tres tamizaciones en 67 pacientes y, de manera similar al análisis del comportamiento de la colonización en el tiempo para

*S. aureus*, se encontró que la mayoría de los pacientes estaban colonizados de manera intermitente (73.9% en el caso de los aislados productores de betalactamasas de espectro extendido y 92.9% para los resistentes a carbapenémicos). La utilización de ERIC y PFGE evidenció la circulación de diversos clones colonizantes con diferentes betalactamasas de tipo CTX-M. Los factores asociados fueron el uso de fluoroquinolonas (OR:3.13, 95%IC: 1.03-9.44) y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (OR: 3.53, 95%CI: 1.42-8.74).

Finalmente, durante los 12 meses de seguimiento se presentaron 71 bacteriemias, la mayoría de éstas causadas por *S. aureus* (39.4%). El análisis de Cox para variables dependientes del tiempo evidenció asociación entre la colonización por *S. aureus* y el tiempo hasta el desarrollo de la primera bacteriemia por esta misma bacteria (HR:4.64, 95%IC: 1.72, 12.53). De manera similar, el modelo de Poisson mostró que los pacientes colonizados con *S. aureus* presentaron un mayor número de bacteriemias en el tiempo, en comparación con los no colonizados (IRR:5.90, 95%IC: 2.29, 15.16). La aplicación de PFGE mostró que el 77.8% de los aislados de *S. aureus* que estaban causando bacteriemia eran las mismas cepas que estaban colonizando previamente al paciente.

En conclusión, la colonización bacteriana en pacientes en hemodiálisis es dinámica y la recolonización por nuevos clones ocurre con frecuencia. Así mismo, la colonización por *S. aureus* es un factor de riesgo independiente para el desarrollo y la frecuencia de bacteriemias por esta misma bacteria. Este resultado señala la necesidad de vigilancia permanente del estado de colonización en este grupo de pacientes, así como la consideración de estrategias de descolonización selectiva. La vigilancia debería incluir, además, a los bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos dada su alta capacidad de diseminación.

#### **PALABRAS CLAVE:**

Hemodiálisis, colonización, resistencia antimicrobiana, betalactámicos, *Staphylococcus aureus*, bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones bacterianas constituyen la segunda causa de muerte después de la enfermedad cardiovascular en los pacientes en hemodiálisis, debido entre otros factores, al uso prolongado de catéteres, la administración frecuente de antibióticos, las múltiples hospitalizaciones, la alteración de la respuesta inmune, diferentes comorbilidades y al estrecho contacto con personal de salud (1, 2). La infección invasiva más frecuente es la bacteriemia, cuyo riesgo es hasta 26 veces superior en comparación con la población general y ha sido asociada principalmente al uso del catéter venoso central (1, 3, 4).

El pronóstico de las infecciones se complica por la emergencia de bacterias con mecanismos de resistencia a antibióticos como los betalactámicos, lo cual se ha convertido en una preocupación mundial debido al impacto clínico que ocasionan las infecciones por estos microorganismos en términos de morbilidad, mortalidad, estancia hospitalaria y aumento de los costos de la atención en salud (5-7). Lo anterior ha conducido a que la Organización Mundial de la Salud advierta sobre la llegada de una era post-antibiótica, en la que infecciones comunes o anteriormente de fácil tratamiento, lleguen a ocasionar muertes como resultado de la resistencia bacteriana a los diferentes grupos de antibióticos (8-10). Así mismo, los betalactámicos son el grupo de antibióticos más utilizados en la práctica clínica diaria debido a su amplio espectro de acción, efecto bactericida y baja toxicidad, por lo que la presencia de mecanismos de resistencia no solo limita las opciones terapéuticas para las infecciones bacterianas comunes, sino que amenaza la efectividad de avances médicos importantes que buscan mejorar la calidad de vida de pacientes con enfermedades crónicas como lo son los pacientes en hemodiálisis (5-7, 10, 11).

Reportes previos han sugerido la importancia de la colonización bacteriana para el desarrollo de infecciones como bacteriemia en los pacientes en hemodiálisis (12-15). Sin embargo, estos estudios presentan limitaciones en cuanto a la ausencia de información que refleje el comportamiento de la colonización a través del tiempo, la falta de seguimiento de pacientes para evaluar la presencia de infecciones y su recurrencia, el desconocimiento del pronóstico de pacientes infectados y la carencia de métodos moleculares que confirmen si la infección es endógena (si el aislado bacteriano que coloniza es el mismo que causa infección) (13, 15).

La colonización bacteriana reviste además gran importancia clínica, debido a que es más frecuente que la infección y los individuos colonizados pueden convertirse en reservorios asintomáticos durante largos períodos de tiempo y de este modo favorecer la transmisión de bacterias resistentes a otros pacientes, al personal de la salud o incluso a sus convivientes (12-14, 16-19). Adicionalmente, estos microorganismos pueden contaminar equipos biomédicos y superficies inanimadas durante las sesiones de diálisis, favoreciendo así su diseminación dentro de las unidades renales (20, 21). Por otro lado, los pacientes en hemodiálisis son un grupo de pacientes con alta carga de morbilidad en los que convergen factores de riesgo de la comunidad y de la atención en salud que parecen favorecer la colonización, cuyo conocimiento es limitado para esta población (20, 21).

*Staphylococcus aureus* es la bacteria que coloniza y causa infecciones invasivas con mayor frecuencia en los pacientes en hemodiálisis (22, 23). De esta manera, la incidencia de bacteriemia es hasta de 27.4/100 años-persona y la colonización por este microorganismo puede alcanzar porcentajes hasta del 70% (22-24). Adicionalmente, entre el 17% y 35% de los pacientes colonizados pueden desarrollar bacteriemia; requiriendo hospitalización el 90% de los casos cuando los pacientes están infectados por aislados de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) (12-14, 25-27). La colonización por SARM, no solo aumenta el número de hospitalizaciones, sino que también puede incrementar la mortalidad hasta 17% durante la estancia hospitalaria y aumentar el riesgo de pérdida del injerto en un período de cinco años, si los pacientes con enfermedad renal crónica son trasplantados (HR: 4.6, 95% CI: 1.0-30.7) (22, 23, 28).

Para el control de infecciones en hemodiálisis las medidas de control y prevención han estado enfocadas tradicionalmente en bacterias Gram positivas como *S. aureus*, sin embargo, en los últimos años la emergencia y rápida diseminación de la resistencia a betalactámicos entre los bacilos Gram negativos ha dirigido la mirada a estos microorganismos (1, 29-36). Éstos son responsables del 25% de las infecciones en los pacientes en diálisis, contienen elementos genéticos móviles que favorecen la transmisión de mecanismos de resistencia y causan infecciones con opciones limitadas de tratamiento (1, 29-36). En este sentido, la producción de mecanismos como betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y de carbapenemasas no solo implican importancia por su alta capacidad de diseminación a partir de los pacientes en hemodiálisis colonizados, sino por el riesgo de infecciones de difícil tratamiento (37). De otro lado, el tracto gastrointestinal es uno de los sitios más propensos a ser colonizados por



microorganismos resistentes, no solo por la facilidad en la transmisión oro-fecal, sino porque muchos antibióticos son eliminados por vía intestinal (25-27). El intestino es un centro de transferencia horizontal de mecanismos de resistencia a través de elementos genéticos de una bacteria a otra y desde allí se puede presentar la translocación de estos microorganismos hacia el torrente sanguíneo o se puede presentar contaminación fecal del acceso vascular; especialmente cuando no se realiza adecuada higiene de manos y se descuidan los protocolos de cuidado de los catéteres (27, 38).

Colombia es uno de los países latinoamericanos con los mayores porcentajes de bacterias resistentes a betalactámicos (39, 40). Particularmente en Medellín, *S. aureus* continúa siendo una de las principales bacterias aisladas tanto en unidades de cuidado intensivo como en otras salas de hospitalización (29). Con relación a la circulación de bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos, el panorama es aún más alarmante debido a que la ciudad presenta algunos de los porcentajes más altos de resistencia a estos antibióticos en comparación con otras ciudades del país como Bogotá y Cali (39, 40). Medellín es considerada endémica para la presencia de mecanismos de resistencia a betalactámicos y ha sido pionera en el reporte mundial de mecanismos de resistencia a estos antibióticos en bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* (39).

Considerando el impacto de las infecciones bacterianas en los pacientes en hemodiálisis, es importante la identificación de factores asociados que puedan ser intervenidos en esta población. La colonización además de ser sugerida como un factor de riesgo para este desenlace, es un estado que favorece la diseminación de bacterias sensibles y resistentes no solo en unidades renales, sino en hospitales y en la comunidad, debido a que los pacientes en hemodiálisis circulan de manera permanente en estos lugares.

De esta manera, la diseminación de bacterias resistentes no solo afecta a los pacientes que reciben hemodiálisis mientras están en las unidades renales, sino que también se puede presentar en los hospitales que visitan con frecuencia dado su complicado estado de salud y se extiende hacia la comunidad y la familia con la que convive (22, 23). Si el paciente con enfermedad renal en hemodiálisis está colonizado o infectado por microorganismos multirresistentes, puede llegar a ser la “tormenta perfecta” para la diseminación de la resistencia por su interacción casi diaria con otros pacientes bajo el mismo tratamiento, con los servicios de atención en salud y con la comunidad. Adicionalmente, el uso de dispositivos endovasculares con alta posibilidad de desarrollo de biopelícula e infección de difícil control y la necesidad de manipulación en el cuidado por parte de personal de salud y familiares, llevan a que

los pacientes sean reservorios que favorecen el intercambio bacteriano entre el ambiente hospitalario y la comunidad (22, 23).

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue analizar el comportamiento en el tiempo de la colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos, sus factores asociados y su efecto en el desarrollo de bacteriemia en una cohorte de pacientes dependientes de hemodiálisis. Todo lo anterior bajo el enfoque de la epidemiología molecular, que combina la epidemiología tradicional con la biología molecular para un mayor entendimiento de las preguntas que surgen alrededor de las enfermedades infecciosas.

Dada la problemática planteada, la pregunta de investigación que se quiere responder es: ¿cuál es el comportamiento en el tiempo de la colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos, sus factores asociados y su efecto en el desarrollo de bacteriemia en una cohorte de pacientes dependientes de hemodiálisis?

## 2. JUSTIFICACIÓN

La presencia de infecciones bacterianas en poblaciones susceptibles, como lo son los pacientes en hemodiálisis, implican un alto impacto clínico por el desarrollo de complicaciones como endocarditis, la limitación de tratamientos cuando son causadas por aislados resistentes, la necesidad de hospitalización y el alto porcentaje de mortalidad (1). Lo anterior se ve traducido además en mayores gastos económicos, en una población ya considerada de alto costo para la atención en salud (1).

El análisis del efecto de la colonización como un posible factor de riesgo asociado con bacteriemia, permite la formulación de estrategias de intervención y el fortalecimiento de los protocolos de control de infecciones con base en los resultados obtenidos. Sin embargo, es necesaria la realización de estudios que superen las limitaciones de las investigaciones que han evaluado el comportamiento de la colonización y su asociación con bacteriemia en los pacientes en hemodiálisis. En primer lugar, la colonización es una condición que cambia en el tiempo por lo que es necesario la tamización en diferentes momentos para evaluar su comportamiento y la clasificación del estado de portador en persistente, intermitente o ausente (15). En segundo lugar, la bacteriemia es un desenlace que puede presentarse hasta un año después de que los pacientes son colonizados, por lo que la realización de estudios de cohorte con períodos de seguimiento cortos podrían disminuir la sensibilidad en la detección de los pacientes infectados (41). En tercer lugar, es importante conocer el pronóstico de las infecciones presentadas según el estado de colonización, en cuanto a la necesidad de hospitalización, estancia hospitalaria y muerte para evaluar el impacto y ampliar el conocimiento sobre la historia natural de la enfermedad (42). Finalmente, se requieren técnicas moleculares que permitan analizar de manera más refinada la asociación entre colonización y bacteriemia, debido a que el clon que coloniza puede ser diferente al que causa la infección (a pesar de corresponder a la misma especie bacteriana) y esto puede alterar las medidas de asociación (14). Adicionalmente, surgen preguntas con relación a si existe diseminación horizontal (paciente-paciente) de las bacterias que colonizan y causan infecciones, cuáles son los clones circulantes y si la re-colonización bacteriana es un evento frecuente en los pacientes en hemodiálisis (14).

Para responder esas preguntas y suplir las limitaciones mencionadas, es necesaria la realización de estudios de seguimiento que evalúen en diferentes momentos el estado de colonización y el riesgo de bacteriemia, incluyendo la recurrencia de este desenlace. Adicionalmente, la biología molecular surge

como una herramienta útil para refinar el análisis epidemiológico del comportamiento de la colonización y las infecciones bacterianas en grupos de pacientes específicos. En los últimos años, los progresos en la biología molecular han revolucionado el diagnóstico microbiológico y han supuesto un importante avance en el estudio de las enfermedades infecciosas (43). La utilización de técnicas basadas en el análisis del ADN bacteriano ha permitido la detección de genes específicos asociados con la resistencia y establecer la relación clonal de los aislados resistentes que están circulando en un lugar determinado (43). La integración de las técnicas de biología molecular con la epidemiología ha dado lugar a una rama de la epidemiología denominada “*epidemiología molecular*”, que aprovecha las ventajas de las técnicas moleculares para conocer con mayor detalle la distribución, los factores de riesgo y la transmisión de infecciones bacterianas específicas (44, 45).

Lo anterior permitirá conocer sobre el comportamiento de la colonización en los pacientes en hemodiálisis, si la diseminación de estos microorganismos ocurre dentro o fuera de la unidad renal y evaluar el efecto de la colonización sobre el desarrollo de bacteriemia. Ésto no solo estará centrado en aportar información para evitar el contacto del paciente con el microorganismo, sino que podrá contribuir en el futuro a la evaluación de otras estrategias como la descolonización en los pacientes con factores de riesgo de desenlaces clínicos adversos; estrategia que ha sido clínicamente útil en la reducción de bacteriemia por bacterias como *S. aureus* en los pacientes en hemodiálisis, pero cuyo uso de rutina ha sido cuestionado por la emergencia de resistencia como consecuencia de los antibióticos suministrados y discordancias en dosis, tiempo y frecuencia del tratamiento; a pesar de su inclusión en las guías de manejo de enfermedad renal crónica (46, 47).

Adicionalmente, esta información permitirá conocer la presencia de bacterias resistentes en un grupo de pacientes que circulan frecuentemente no solo en ambientes hospitalarios, sino en la comunidad. Una población de alto costo, en la que además convergen diferentes factores que aumentan el riesgo de infecciones bacterianas en un país endémico para la circulación de bacterias resistentes.

### 3. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

#### 3.1. Tratamiento de reemplazo renal con diálisis

El proceso de diálisis se basa en suplir algunas funciones del riñón (principalmente las funciones exocrinas), mediante las modalidades de hemodiálisis y diálisis peritoneal (48). El inicio de esta terapia está basada en criterios clínicos de acuerdo con la presencia de alteraciones metabólicas, cardíacas o neurológicas, en pacientes con un filtrado glomerular de 9-6 mL/min por 1.73 m<sup>2</sup> (49). La diálisis es un tipo de tratamiento realizado en los pacientes con enfermedad renal crónica terminal, con el fin de aumentar la supervivencia, reducir la morbilidad y mejorar la calidad de vida (50).

Dado el incremento dramático en la prevalencia de la enfermedad renal crónica, los costos para su tratamiento representan una alta carga en la salud a nivel mundial (51). En el año 2008 aproximadamente 1.75 millones de personas recibieron terapia de reemplazo renal con diálisis, de las cuales 1.55 millones (89%) estaban en hemodiálisis y 197.000 en la modalidad de diálisis peritoneal; con un porcentaje de crecimiento anual promedio del 7%. Adicionalmente, la terapia de reemplazo renal con diálisis requiere de equipos especializados, materiales y personal calificado que representan una alta carga para los servicios de salud (51, 52). En países de América del Sur como Chile y Brasil estos costos superan los 24.000 dólares anuales por paciente, de forma similar a otros países como Turquía y Suráfrica (52). Algunas de las razones que explican esta tendencia mundial son el aumento en la expectativa de vida, las múltiples comorbilidades y el acceso a la terapia de reemplazo en países en donde previamente estaba limitada (52).

##### 3.1.1. Hemodiálisis

Técnica de depuración extracorpórea que consiste en el intercambio de agua y solutos entre la sangre del paciente y el líquido de diálisis mediante una membrana semipermeable de un equipo dializador, de forma similar a lo que ocurre en el riñón (49). Estas membranas permiten el paso de agua y solutos, pero no de las células ni de los sustratos con un peso molecular superior a 50 kDa, como la albúmina y otras proteínas plasmáticas, logrando así el restablecimiento del equilibrio electrolítico y ácido-básico (50). La hemodiálisis es realizada generalmente durante tres sesiones semanales de 4 horas, pero puede variar según la indicación médica (50). Para realizar este procedimiento se precisa de un acceso vascular que



puede consistir de una fistula arteriovenosa interna o de un catéter temporal o permanente, siendo de elección la primera por menor riesgo de infección y mayor estabilidad (48). Los tipos de acceso vascular en orden creciente de riesgo de infección son: fistulas arteriovenosas, injertos arteriovenosos, catéteres venosos centrales tunelizados y catéteres venosos centrales no tunelizados (49):

- Fístula arteriovenosa: Es establecida por anastomosis de una arteria y una vena, con el fin de desarrollar una red venosa arterializada que pueda puncionarse de forma repetida. Las complicaciones frecuentes son trombosis y desarrollo de aneurismas (3).
- Injerto arteriovenoso: Conexión realizada de forma quirúrgica entre una vena y una arteria mediante un tubo sintético que proporciona un acceso vascular permanente (3).
- Catéter venoso central: Son catéteres que son insertados a través de una vena y se conducen mediante una gran arteria hasta el corazón; para su inserción se prefiere la vena yugular interna por la menor frecuencia de complicaciones (49). La vena femoral es preferida como segunda elección y la subclavia es evitada comúnmente por la presencia de estenosis poscateterización, que puede comprometer la posterior utilización de una fistula (49). Los catéteres pueden ser clasificados en dos grupos, los temporales y los permanentes: los catéteres temporales son accesos transitorios indicados en pacientes con insuficiencia renal aguda, con limitación para un acceso vascular o con un acceso pendiente de maduración; por su parte, los catéteres permanentes son indicados en pacientes sin ninguna posibilidad de creación de fistula, con problemas del acceso vascular con solución en un plazo superior a un mes o en pacientes con corta expectativa de vida (3) (49). De acuerdo con el recorrido, los catéteres pueden ser clasificados adicionalmente en tunelizados y no tunelizados: los tunelizados recorren una distancia debajo de la piel desde el punto de inserción hasta uno de los grandes vasos, mientras que los no tunelizados recorren directamente desde el lugar de ingreso en la piel hasta una vena y terminan cerca del corazón o de uno de los grandes vasos, generalmente previstos para una terapia a corto plazo (3) (49). Aunque los catéteres pueden ser utilizados de forma inmediata, su principal desventaja es la mayor probabilidad de infección que la fistula, estenosis y trombosis (53).

### **3.1.2. Diálisis peritoneal**

Esta modalidad de terapia renal consiste en la capacidad de la membrana peritoneal de permitir el intercambio de solutos y agua entre los capilares y la solución de diálisis introducida en la cavidad peritoneal; esto gracias a que dicha membrana es altamente vascularizada y a que contiene un superficie amplia entre 1-2 m<sup>2</sup> (3) (49). La diálisis peritoneal puede ser realizada diariamente en el hogar del paciente, lo que ofrece una mayor autonomía, una depuración más lenta, mayor estabilidad hemodinámica y una mayor preservación de la función renal (54). Entre las desventajas se reporta el tiempo que debe ser invertido para el procedimiento, las implicaciones para el paciente y sus convivientes, la disfunción del catéter y las infecciones en el orificio de inserción, en el trayecto subcutáneo y la peritonitis; siendo la manipulación incorrecta del catéter la principal causa de infección, ya sea por la presencia de bacterias en el tejido subcutáneo o la translocación de microorganismos desde el intestino (3) (49).

### **3.2. Antibióticos betalactámicos y resistencia en bacterias de importancia clínica**

Los betalactámicos son un grupo de antibióticos altamente diversos que comparten un anillo betalactámico en su estructura molecular que funciona como el sitio activo del medicamento (8). Su actividad es bactericida porque actúan como sustrato “suicida” para las proteínas de unión a la penicilina (PBP), encargadas de la función de transpeptidación durante la síntesis del peptidoglicano, provocando la lisis celular bacteriana (8, 55). Este grupo incluye antibióticos con un amplio espectro de acción contra bacterias aerobias y anaerobias, tanto Gram negativas como Gram positivas, lo que sumado a su baja toxicidad y capacidad bactericida, ha llevado a que sean los de primera elección y los más utilizados en la práctica clínica (8, 55). Dentro del grupo de betalactámicos se encuentran más de 28 antibióticos que pertenecen a cinco subgrupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos y combinaciones con inhibidores de betalactamasas (8). La penicilina G o benzilpenicilina fue el primer betalactámico que fue comercializado en el año 1948, diez años después de su descubrimiento por parte de Alexander Fleming (56). Posteriormente, generaciones progresivas de penicilinas con modificaciones estructurales fueron comercializadas a medida que surgían mecanismos de resistencia a estos antibióticos, como la meticilina y oxacilina, estables a la acción de penicilinasas (8, 56). Combinaciones de penicilinas con inhibidores de betalactamasas surgieron para revertir la resistencia dada por algunas

de estas enzimas y para que pudieran ser utilizados como tratamiento en infecciones graves por bacilos Gram negativos, tales como piperacilina/tazobactam y ampicilina/sulbactam (56, 57).

Si bien, el uso de penicilina ha decaído en el mundo, todavía se emplean aminopenicilinas para tratar infecciones por estreptococos, espiroquetas y algunos bacilos Gram negativos sensibles (11, 57). En el medio hospitalario la combinación de penicilinas con inhibidores de betalactamasas, se ha constituido en el medicamento de primera línea en procesos complicados polimicrobianos (peritonitis, pie diabético, abscesos) y en muchas infecciones graves causadas por bacilos Gram negativos (11, 57). Así mismo, las cefalosporinas han sido de gran utilidad en el tratamiento de infecciones ocasionadas por este tipo de bacterias y en la actualidad se cuenta con cinco generaciones que han sido desarrolladas de forma secuencial para ampliar el espectro de acción hacia bacterias con mecanismos de resistencia intrínsecos o adquiridos como *Pseudomonas aeruginosa* y *S. aureus* (11, 57). Con relación a los monobactámicos, el más utilizado es el aztreonam el cual posee un espectro de acción reducido solo hacia bacilos Gram negativos aerobios (57).

Finalmente, los carbapenémicos son antibióticos betalactámicos de amplio espectro con actividad frente a bacterias Gram positivas, Gram negativas, aerobias y anaerobias (58). Estos antibióticos tienen una buena actividad bactericida frente a bacterias Gram negativas porque se unen fuertemente a las PBP 1A, 1B y 2, siendo estables a betalactamasas como las AmpC y las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (59); razón por la cual son el tratamiento de elección en infecciones ocasionadas por bacilos Gram negativos resistentes a penicilinas y cefalosporinas (33, 60).

La resistencia a betalactámicos se ha convertido en una preocupación global, debido a que las infecciones causadas por microorganismos resistentes a menudo fallan en responder al tratamiento estándar, resultando en mayor riesgo de muerte, hospitalización prolongada y altos costos hospitalarios (59). Además la resistencia favorece el riesgo de transmisión, ya que dada la ineffectividad de la terapia antimicrobiana, los pacientes permanecen colonizados e infectados por un período mayor de tiempo (5).

### 3.2.1. Resistencia a betalactámicos en bacilos Gram negativos

La resistencia a betalactámicos en los bacilos Gram negativos está mediada principalmente por la presencia de enzimas denominadas betalactamasas que hidrolizan el anillo del antibiótico impidiendo su acción (56). Otros mecanismos de resistencia incluyen mecanismos no enzimáticos como alteración de porinas y la sobre-expresión de bombas de expulsión (56). Las betalactamasas difieren en su espectro de hidrólisis y en la actualidad se reportan más de mil variaciones en los bacilos Gram negativos ([www.lahey.org/Studies/](http://www.lahey.org/Studies/)). Dado el alto número de betalactamasas que han sido reportadas, se han propuesto dos metodologías de clasificación, la funcional descrita por Bush y Jacoby (61) y la molecular descrita por Ambler (62). La clasificación funcional está basada en la capacidad de hidrólisis de enzima para cada sustrato betalactámico y los perfiles de inhibición, arrojando diferentes grupos y subgrupos (63). Por su parte, la clasificación molecular de Ambler está basada en la presencia de moléculas en el sitio activo de la enzima, agrupando las betalactamasas en dos grandes clases: las serin betalactamasas, que requieren serina en su sitio activo para su funcionamiento (betalactamasas de clase A, C y D) y las metalo-betalactamasas, las cuales requieren un metal como el Zinc (Zn) para poder funcionar (betalactamasas de clase B) (62). Esta última clasificación ha sido ampliamente utilizada por su facilidad de interpretación y manejo (62).

Las betalactamasas de clase A comprenden una variedad de enzimas con actividad penicilinasas, cefalosporinasas y carbapenemasa (37, 64). Las primeras incluyen solo las de tipo penicilinasas como la PC1, mientras que entre las cefalosporinasas se encuentran: (i) las de amplio espectro (con actividad frente a penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación, como TEM-1 y SHV-1) y (ii) las de espectro extendido o BLEE (con un espectro más amplio de acción que incluye cefalosporinas de tercera y cuarta generación, excepto carbapenémicos y cefamicinas y son inhibidas *in vitro* por tazobactam, clavulánico y sulbactam) (37, 64). Estas últimas enzimas son producto de mutaciones de otras betalactamasas de clase A como TEM-1, TEM-2 y SHV-1, que ampliaron su espectro de hidrólisis (62). A partir del año 2000, se presentó un cambio en la distribución de las BLEE, con la emergencia y diseminación de las betalactamasas CTX-M, que a diferencia de las variantes TEM y SHV, su origen se encontraba en el cromosoma de *Kluyvera* spp, un género que no presenta importancia clínica y se movilizan por medio de plásmidos y secuencias de inserción (37, 64). Esta cefalosporinasas hidroliza cefotaxime más rápido que ceftazidima y es más susceptible a la inhibición por tazobactam que por el

ácido clavulánico. La búsqueda de BLEE ha sido estandarizada para especies de *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* y *Proteus mirabilis* (37, 64). Por su parte, dentro de las carbapenemasas de clase A se encuentran SME, IMI y KPC, las cuales hidrolizan todos los betalactámicos incluyendo los carbapenémicos, considerados como última opción terapéutica dentro de este grupo de antibióticos, limitando en gran medida las opciones de tratamiento (56, 65). Particularmente, la carbapenemasa KPC se ha diseminado alrededor del mundo, encontrándose tanto en enterobacterias como en bacilos no fermentadores como *P. aeruginosa* y ha sido asociada con altos porcentajes de mortalidad (56, 65).

Las betalactamasas de clase B o metalo-betalactamasas incluyen solo carbapenemasas que hidrolizan todos los betalactámicos, excepto el aztreonam, tales como NDM (relacionada con altos valores de MIC a carbapenémicos y con la resistencia simultánea a otros antibióticos como aminoglicósidos) e IMP y VIM, encontradas principalmente en *P. aeruginosa* (66).

Las betalactamasas de clase C son enzimas que hidrolizan cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, incluyendo cefamicinas y no son revertidas por inhibidores de betalactamasas. En este grupo se encuentran enzimas tipo AmpC, como ACT-1 y FOX-1 (56). Aunque algunas de ellas están contenidas en plásmidos, la mayoría se encuentran codificadas en el cromosoma bacteriano en microorganismos como *Aeromonas* spp, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii* y *Serratia marcescens*. En contraste, enzimas como las BLEE y las carbapenemasas con frecuencia se encuentran codificadas en elementos genéticos móviles que generalmente portan genes de resistencia a otros antibióticos, con alta capacidad de diseminación de una bacteria a otra y limitando las opciones terapéuticas (64, 66).

Finalmente, las betalactamasas de clase D incluyen enzimas que hidrolizan cloxacilina y oxacilina (OXA-1 y OXA-15) y otras que además tienen actividad carbapenemasa como la OXA-23 encontrada con alta frecuencia en *Acinetobacter baumannii* y la OXA-48 reportada en diferentes enterobacterias (67, 68).

### 3.2.2. Resistencia a betalactámicos en *Staphylococcus aureus*

En esta bacteria la resistencia a la meticilina ha sido especialmente importante, porque limita todas las opciones terapéuticas dentro del grupo de los betalactámicos, excepto para ceftarolina y ceftobiprol (69). La resistencia a las isoxazolilpenicilinas, que incluye a la meticilina y la oxacilina, está mediada por una proteína de unión a la penicilina alterada PBP2a, con baja afinidad para los betalactámicos; proteína de 76 kDa que está codificada por el gen *mecA* y contiene solo un dominio transpeptidasa, por lo que requiere del dominio de transglicosilación de las PBP normales para la formación de la pared bacteriana (70, 71). El gen *mecA* está contenido en un elemento genético móvil conocido como el cassette cromosómico *mec* –*SCCmec* que se caracteriza por la presencia de cuatro regiones: (i) unas secuencias repetidas directas e invertidas en sus extremos, (ii) un complejo de genes *mec*, (iii) un complejo de genes *ccr* y (iv) un sitio de inserción cromosómico (69). Se han descrito diferentes tipos de *SCCmec* basados en las combinaciones de las clases del complejo *mec* y del complejo *ccr* y además pueden ser clasificados en sub-tipos de acuerdo a las diferencias encontradas en secuencias llamadas “J” que pueden contener plásmidos o transposones que contienen genes de resistencia a antibióticos no betalactámicos y a metales pesados (72).

En las primeras décadas, los aislados de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) fueron reportadas causando infecciones intra-hospitalarias por lo que fueron denominadas como SARM-AH (SARM asociado al hospital). Éstos se caracterizaban por presentar además de la resistencia a meticilina, resistencia a otros grupos de antibióticos como aminoglicósidos, macrólidos y lincosamidas; y los pacientes presentaban factores de riesgo como consumo de antibióticos, hospitalización y cirugías previas, entre otros (70). Sin embargo, en los años 90 se reportaron los primeros casos de infecciones por SARM asociados a la comunidad (SARM-AC), principalmente en niños y adultos jóvenes sin factores de riesgo asociados con la atención en salud y con bajos niveles de resistencia a antibióticos no betalactámicos; con resistencia principalmente a oxacilina o a oxacilina+tetraciclina (73, 74). En los últimos años se ha documentado desplazamiento de cepas de SARM tradicionalmente asociadas a la comunidad hacia el ambiente hospitalario y en varios lugares en el mundo las cepas asociadas a la comunidad son en la actualidad una causa importante de infecciones dentro del entorno hospitalario (75, 76).

Los tipos de SCCmec I, II y III han sido relacionados principalmente con infecciones por SARM-AH, mientras que los tipos IV, V y VII han sido asociados con infecciones por SARM-AC y los tipos IX, X y XI han sido encontrados en aislados de SARM asociados a animales (72).

### **3.2.3. Impacto clínico de la resistencia a betalactámicos**

Diversos estudios demuestran que las infecciones ocasionadas por bacterias resistentes han sido asociadas a un mal pronóstico para el paciente infectado (77, 78). De esta forma, se ha reportado un incremento en la mortalidad en pacientes con bacteriemia causada por enterobacterias productoras de BLEE (RR=1.85; 95% CI, 1.39-2.47) y un aumento del riesgo de infección con el retraso en la terapia apropiada (RR=5.56; 95% CI, 2.9-10.5) (79). Así mismo, en pacientes con infecciones de tracto urinario por *E. coli* o *K. pneumoniae* productoras de BLEE se ha estimado mayor costo promedio (3658 dólares adicionales, p=0.02) y mayor estancia hospitalaria (p=0.02), en comparación con las infecciones ocasionadas por bacterias no productoras de estas enzimas (80). Infecciones causadas por bacterias resistentes a carbapenémicos como *K. pneumoniae* han sido asociadas con una mayor estancia hospitalaria, en comparación con los aislamientos sensibles (16 vs 22 días, respectivamente, p = 0.03) y se ha encontrado como un predictor de mortalidad relacionada con la infección (OR = 3.89; 95% CI, 1.34–11.25) (81). Adicionalmente, SARM ha sido relacionado con porcentajes de mortalidad superiores al 12% en el caso de bacteriemia (82). Para el caso de la bacteriemia secundaria a una neumonía, este porcentaje aumenta hasta el 33%, con un mayor riesgo de muerte y una mayor estancia hospitalaria en comparación con los casos en los que solo se presenta neumonía (OR=1.56; 95% CI, 0.93-2.61 y una mediana de 18.2 vs 12.2 días, p<0.001; respectivamente) (83).

### **3.3. Infecciones bacterianas en los pacientes en hemodiálisis**

Los pacientes en hemodiálisis son altamente susceptibles a la presencia de infecciones asociadas a la atención en salud, no solo porque este procedimiento es invasivo, sino por el compromiso inmunológico que tienen los pacientes (50). En ellos la uremia y la inflamación de los filtros de diálisis puede causar estrés oxidativo y activación de la apoptosis con disminución del número de linfocitos T, lo que favorece la infección (3).

Las infecciones como bacteriemia son la causa más frecuente de morbilidad y la segunda causa de mortalidad, después de la enfermedad cardiovascular, en los pacientes en hemodiálisis; incluso, el riesgo de muerte atribuible a sepsis es mayor que en la población general (3). Las infecciones más frecuentes son bacteriemia y la infección local del lugar de acceso vascular, sin embargo pueden presentar otro tipo de infecciones como neumonía, endocarditis, en piel y en tracto urinario (84). En los pacientes en diálisis peritoneal, la peritonitis y la infección del acceso del catéter son las principales infecciones que se reportan (50, 85).

Una causa frecuente de bacteriemia es la contaminación de los catéteres, ya sea en la región endoluminal por siembras microbianas o por contaminación extraluminal por migración de la microbiota corporal a través del trayecto cutáneo de fibrina alrededor del dispositivo (84). Esta infección puede también presentarse por vía hematogena desde otro punto de infección en alrededor del 3-10% de los casos o por contaminación de los líquidos de infusión (3). La mayoría de episodios de bacteriemia en los pacientes en hemodiálisis son asociados con el acceso vascular, particularmente con el catéter venoso central (32% de los casos), riesgo hasta 10 veces mayor en comparación con la fístula arteriovenosa (86).

Adicionalmente, los pacientes en hemodiálisis son un grupo con un alto riesgo de infección por bacterias resistentes, debido a las hospitalizaciones frecuentes y el antecedente de uso de antibióticos, lo que complica de forma considerable el pronóstico en comparación con las infecciones causadas por microorganismos sensibles (1). De igual forma, las infecciones causadas por estas bacterias representan un problema importante en salud pública, porque los pacientes en hemodiálisis presentan condiciones de base que de por sí aumentan el riesgo de infección (86). La emergencia de resistencia a los betalactámicos ha sido particularmente notable en bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* y en bacilos Gram negativos como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*; microorganismos que frecuentemente afectan a la población en hemodiálisis (1).

### **3.3.1. Infecciones por *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* es la bacteria más frecuente en los pacientes en hemodiálisis, por lo que la emergencia de la resistencia a meticilina ha tenido un impacto importante en esta población (12, 87). Los aislados de *S. aureus* causan más del 51% de las infecciones en sangre, las cuales son asociados con un aumento significativo de costos y mortalidad (1). Alrededor del 90% de los pacientes con infecciones



invasivas por SARM requieren de hospitalización y cerca del 17% mueren durante la estancia hospitalaria (88). Cuando se consideran las infecciones asociadas a la atención en salud causadas por *S. aureus*, la incidencia es significativamente mayor en los pacientes en diálisis, en comparación con otros pacientes expuestos al entorno hospitalario (1). Los aislados de SARM asociados a la comunidad (SARM-AC) causan alrededor del 25% de las infecciones en los pacientes en hemodiálisis y son la principal causa de infección en piel y tejidos blandos, un tipo de infección frecuente en este grupo de pacientes (12, 87).

### **3.3.2. Infecciones por bacilos Gram negativos**

Los bacilos Gram negativos causan alrededor del 25% de las infecciones en sangre en los pacientes en hemodiálisis, siendo aproximadamente el 9.7% resistentes a cefalosporinas de tercera generación y el 3.4% resistentes a carbapenémicos (89). La mortalidad por infecciones causadas por estas bacterias es alrededor del 25.3%, siendo mayor en las infecciones causadas por cepas resistentes y más aún cuando las infecciones son polimicrobianas, lo cual puede ocurrir en el 11.9% de los casos (90). Las fuentes comunes de bacteriemia son: catéter venoso central (16.8%), úlceras infectadas (14.0%), tracto urinario (10.5%), biliar (9.5%) e intra-abdominal (9.5%); siendo frecuentes bacterias como *Escherichia coli* (49.5%), *Enterobacter* spp (13.1%), *Klebsiella* spp (11.1%), *Proteus mirabilis* (6.1%) y *Pseudomonas aeruginosa* (5.1%) (90). Existen pocos estudios que evalúen las infecciones causadas por bacilos Gram negativos resistentes en pacientes en diálisis (1). Sin embargo, se ha encontrado que la hemodiálisis es un factor de riesgo independiente para las infecciones por bacilos Gram negativos productores de BLEE, por lo que dichos pacientes tienen mayor riesgo de infección por estas bacterias en comparación con los aislamientos sensibles (91). Así mismo se ha descrito que aislados de *K. pneumoniae* productores de estas betalactamasas pueden causar hasta el 23.1% de las infecciones que se presentan en los pacientes en hemodiálisis (92).

### **3.4. La colonización bacteriana como un factor de riesgo para la infección**

Estudios previos han sugerido que la colonización bacteriana es uno de los principales factores de riesgo para la infección en la población en diálisis (13, 25, 26, 41) (tabla 1). Incluso se ha reportado que el porcentaje de colonización por al menos una bacteria multirresistente en pacientes en la modalidad de

hemodiálisis puede alcanzar el 28% (14). Lo anterior tiene varias implicaciones, primero porque para prevenir infecciones por estas bacterias, las estrategias deben ser enfocadas en evitar la transmisión y segundo porque la colonización es más frecuente que la infección y puede persistir por largos periodos de tiempo, lo que favorece que los portadores asintomáticos de bacterias multirresistentes sean reservorios de estos microorganismos y puedan transmitirlos sin ser detectados (1).

**Tabla 1.** Estudios que han evaluado la colonización y el desarrollo de infecciones en los pacientes en hemodiálisis

Autor/País/Año	Muestra	Tipo de diseño	Población o muestra	Variables: exposición y resultado	Riesgo o porcentaje de infección en pacientes colonizados
Borer et al. Israel, 2012	464	Casos y controles	Pacientes hospitalizados	Exposición: colonización rectal por <i>K. pneumoniae</i> resistente a carbapenémicos Desenlace: Infección por enterobacterias resistentes a carbapenémicos	42 (9.1%)
Lubbert et al. Alemania, 2014	27	Casos y controles	Pacientes con trasplante de hígado	Exposición: colonización por <i>K. pneumoniae</i> KPC-2 Desenlace: Infección por <i>K. pneumoniae</i> KPC-2	8/9 (89%) RR 7.0 (IC 95%, 1.8-27.1)
Schechner et al. Israel, 2013	132	Casos y controles	Pacientes hospitalizados	Exposición: colonización rectal por enterobacterias resistentes a carbapenémicos (CRE) Desenlace: Infección por CRE	44 (8.8%)
Ben-Ami, et al Israel, 2006	110	Casos y controles	Pacientes hospitalizados	Exposición: colonización fecal por enterobacterias productoras de BLEE	4 (15.4%)

				Desenlace: Bacteriemia por enterobacterias productoras de BLEE	
Lai, et al Taiwan, 2011	306	Cohorte	Pacientes en hemodiálisis	Exposición: Colonización nasal con SARM Desenlaces: Infección por SARM y muerte	5/29 (17.24%) HR: 4.31 (IC 95%, 1.55–11.97)
Lu, et al Taiwan, 2008	1687	Corte transversal	Pacientes en hemodiálisis y diálisis peritoneal	Exposición: Colonización nasal con SARM Desenlaces: Infección por SARM y muerte	4 (33.3%)
Saxena, et al Arabia Saudita, 2002	208	Cohorte	Pacientes en hemodiálisis	Exposición: Colonización nasal por <i>S. aureus</i> en pacientes diabéticos Desenlace: Bacteriemia asociada a catéter vascular	1.24 episodios de bacteriemia/100 meses paciente (38%) RR 2.95 (IC 95%, 2.95–5.40)
Aktas, et al Turquía, 2011	123	Corte transversal	Pacientes en hemodiálisis que requieren hospitalización	Exposición: Colonización por <i>S. aureus</i> Desenlace: Infección bacteriana durante el periodo de hospitalización	4 (50%)
Yeoh, et al Singapur, 2014	179	Cohorte retrospectiva	Pacientes hospitalizados en hemodiálisis	Exposición: Colonización por SARM Desenlace: Infección bacteriana durante el periodo de hospitalización	74.1% RR: 3.2 (IC 95%, 1.41–7.09)
Patel, et al Estados Unidos, 2011	103	Corte transversal	Pacientes en hemodiálisis	Exposición: Colonización SARM Desenlace: Infección por SARM	3 (25%)

*Staphylococcus aureus* es la bacteria que coloniza con mayor frecuencia a los pacientes en hemodiálisis, particularmente la colonización por SARM se ha reportado con un porcentaje que oscila entre 1.4% hasta el 27% de los pacientes y entre el 17% al 35% de los pacientes pueden desarrollar infecciones como

bacteriemia (1). La colonización puede ser de forma persistente o intermitente, siendo la primera la que se asocia con mayor riesgo de infección y mayor mortalidad (93).

La transmisión de *S. aureus* puede darse de paciente a paciente, por medio de manos o guantes contaminados del personal de atención o a partir de superficies contaminadas, sugiriendo una fuente exógena de transmisión, con una incidencia de 1.2 por 100 pacientes-meses de riesgo (12, 14, 15). Para la evaluación de la colonización por *S. aureus* se ha reportado que la tamización en fosas nasales tiene solo una sensibilidad del 84%, lo que hace necesaria la evaluación de otros sitios como la piel y la faringe, para incrementar la sensibilidad de la detección hasta más del 90% (94). Por su parte, con relación a bacilos Gram negativos, pocos estudios han evaluado la colonización por aislados multirresistentes en los pacientes en diálisis, por lo que su papel en el desarrollo de infección aún no está establecido. En estudios previos se ha reportado una colonización intestinal del 16% por estas bacterias, incluso algunos autores han sugerido que este porcentaje puede ser superior en comparación con la colonización por SARM (1, 12, 14).

En pacientes que no están colonizados, la probabilidad de colonización durante un periodo de seguimiento de 6 meses puede ser hasta del 20%, ya sea por transmisión exógena (de paciente a paciente) o por vía endógena (a través de la adquisición de mecanismos de resistencia en las bacterias que hacen parte de la microbiota, de forma horizontal por conjugación o de forma vertical por diseminación clonal) (12, 14). Dentro de las betalactamasas que han sido descritas se encuentran las de tipo BLEE en bacterias como *Escherichia coli*, en un porcentaje de alrededor del 8.3% (95).

En general, los estudios que evalúan la colonización e infección bacteriana en los pacientes en diálisis contienen limitaciones con relación a la ausencia de métodos moleculares para confirmar que la cepa que coloniza es la misma que causa la infección, ausencia de seguimiento para evaluar cómo se comporta la colonización en el tiempo y si desenlaces como la mortalidad se presentan con mayor frecuencia en los pacientes colonizados que desarrollan infección (12, 14).

### **3.5. Factores asociados con la colonización y con el desarrollo de infecciones bacterianas**

Los factores de riesgo para la infección o la colonización por bacterias resistentes en los pacientes en hemodiálisis incluyen factores propios del individuo, del ambiente residencial y factores asociados con la atención en salud (contacto con el entorno hospitalario y con la unidad renal):

#### **3.5.1. Del individuo**

En los pacientes en hemodiálisis se han descrito características que aumentan el riesgo de colonización por SARM, como la presencia de enfermedad pulmonar (OR=2.16; 95% CI, 1.04-4.51) y la insuficiencia cardíaca congestiva (OR=3.03; 95% CI, 1.46-6.29), así como el compromiso del sistema inmune, la edad y el tratamiento previo con antibióticos (96) (97).

#### **3.5.2. Del ambiente residencial**

La resistencia antimicrobiana es un problema comúnmente confinado al entorno hospitalario, en donde la situación ha sido documentada y se han implementado estrategias de control para evitar la diseminación de bacterias resistentes. Sin embargo, cada vez es más frecuente el ingreso a los hospitales de personas colonizadas por bacterias resistentes sin factores de riesgo asociados a la atención en salud, lo que sugiere la circulación de estas bacterias en la comunidad (98).

El uso frecuente de antibióticos en la vida diaria sin prescripción médica y en otros ambientes diferentes a la salud humana como la veterinaria, la agricultura y la industria alimentaria, donde son utilizados hasta cuatro veces más, ha contribuido con la colonización y diseminación de bacterias resistentes en la comunidad (8, 99, 100) (11). Los antibióticos están incluidos dentro de los medicamentos más vendidos en las farmacias, muchos de ellos sin fórmula médica y para infecciones de origen viral, en los que no tienen efecto alguno (101, 102). Factores adicionales al consumo de antibióticos, como la estancia en lugares de cuidado prolongado como ancianatos, el contacto previo con los servicios de atención en salud, los viajes a zonas endémicas y ciertos hábitos alimentarios como el consumo de cerdo, aves de corral o pollo, han sido asociados con la adquisición de betalactamasas de tipo BLEE en la comunidad; sugiriendo transmisión a través de la cadena alimentaria (103-105).

Así mismo, se han encontrado cepas de *E. coli* productoras de BLEE con el mismo perfil genético sobre superficies de la vivienda, en mascotas y en humanos, sugiriendo una transmisión cruzada de esta bacteria (106). La transmisión persona a persona, incluso de madre a hijo en el momento del parto, ha sido

documentada por diferentes autores (107) (106, 108); además de otras fuentes de transmisión como el dinero, el agua y los animales domésticos (109-112). La colonización por bacterias como *E. coli* productora de BLEE ha sido asociada con infecciones adquiridas en la comunidad, principalmente por aislamientos portadores de CTX-M-1, a diferencia de los aislamientos hospitalarios comúnmente productores de CTX-M-14 o CTX-M-15 (104, 105, 113).

Algunos estudios han revelado una alta frecuencia de colonización por SARM en los convivientes de pacientes con infección previa (OR, 2.7; 95% CI 1.3–5.6) y una alta frecuencia de estas bacterias en el ambiente residencial (OR, 6.8; 95% CI 2.4–19.4), lo que puede favorecer el desarrollo de infecciones posteriores en el mismo paciente o en su familia (25, 114). Un estudio realizado en una unidad renal donde se evaluó la colonización en los pacientes, sus convivientes y el personal de atención, encontró que 4.3% del personal de atención estaba colonizado con aislados de SARM genéticamente similares a los de los pacientes en diálisis y que 6.8% de los convivientes estaban también colonizados por estos aislamientos (13). Otros estudios han evidenciado un porcentaje de colonización por enterobacterias productoras de BLEE en el 16.7% de los convivientes de pacientes con infección previa, siendo el 66% de los aislamientos indistinguibles de los detectados en dichos pacientes, lo cual evidencia una transmisión persona a persona de estos microorganismos (115).

### **3.5.3. Del entorno hospitalario**

La hospitalización reciente ha sido descrita por varios autores como un factor de riesgo para la colonización e infección por bacterias resistentes (OR=1.93; 95% CI, 1.04-3.58), lo que podría relacionarse con la adquisición de estos microorganismos en el hospital o comportarse como un marcador de severidad de las comorbilidades (96) (116, 117). Adicionalmente, la larga estancia hospitalaria originada por estas infecciones puede favorecer la colonización de otros pacientes hospitalizados, lo que ha sido asociado con infecciones posteriores, falla terapéutica y costos adicionales en medidas de contacto (16-19). Además del riesgo de transmisión hacia otros pacientes, está la posibilidad de transmisión al personal de la salud e inclusive a superficies inanimadas, lavamanos y fómites, donde puede permanecer por largos periodos de tiempo (118-121) (122).

De esta forma el entorno hospitalario se convierte en un reservorio de bacterias resistentes, en donde la transmisión de bacterias de un paciente a otro o a través de fómites se ve favorecido por la utilización de

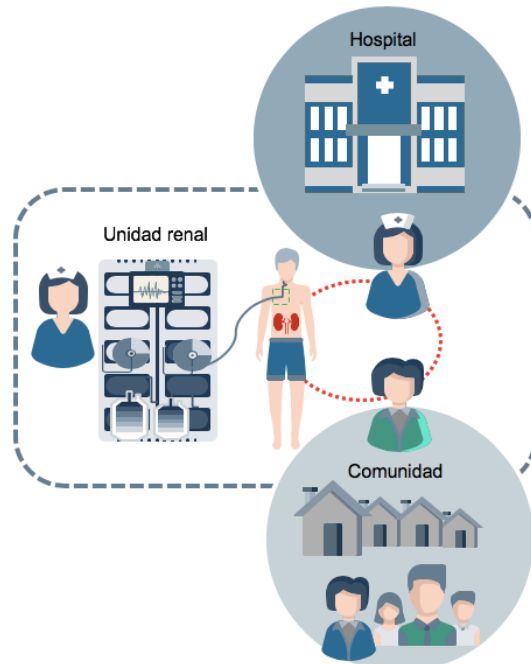
diferentes clases de antibióticos y de dispositivos médicos invasivos que propician la infección y colonización por microorganismos resistentes como *P. aeruginosa*, los cuales pueden sobrevivir de forma persistente en el ambiente hospitalario (123-125). Las estancias hospitalarias largas (OR=2.00; 95% CI, 1.27-3.16), la ventilación mecánica (OR=2.56; 95% CI, 1.24-5.28) y la contaminación por dispositivos como broncoscopios han sido factores asociados con la colonización por bacterias resistentes a carbapenémicos (124-126). Algunos estudios plantean además la posibilidad de que la transferencia de elementos genéticos móviles que portan mecanismos de resistencia no solo se da *in vivo*, sino también en el ambiente hospitalario como en superficies y fómites, lo que puede favorecer también la diseminación de bacterias resistentes en los pacientes hospitalizados y la persistencia de brotes (127).

#### **3.5.4. De la unidad renal**

Hay pocos estudios sobre la dinámica de la transmisión de bacterias resistentes en las unidades renales. Esta transmisión puede ser resultado del contacto directo o indirecto con el ambiente, el equipo o manos del personal de atención contaminadas (1). Algunos estudios sugieren que la colonización nasal por *S. aureus* en el personal de atención es entre 2.8-11.6%, pero el papel de esta colonización en la transmisión de esta bacteria no ha sido evidenciado (1). En un estudio con *Enterococcus* resistente a vancomicina, se encontró que la contaminación por esta bacteria procedente de la silla, la bata del personal de atención y el esfingomanómetro fue del 54%, 25% y 8%, respectivamente (128). Otro estudio reportó la presencia de bacterias multirresistentes en la pantalla del equipo de diálisis en un 5.8% (14). Así mismo, los pacientes que reciben diálisis a través de un catéter venoso central tienen mayor riesgo de infección en comparación con los que son dializados por fístula (14).

Sin embargo, la diseminación de bacterias resistentes no solo afecta a los pacientes que reciben hemodiálisis mientras están en las unidades renales, sino que también se puede presentar en los hospitales que visitan con frecuencia dado su complicado estado de salud y se extiende hacia la comunidad y la familia con la que convive. El paciente con enfermedad renal en hemodiálisis colonizado o infectado por microorganismos multirresistentes no solo interactúa con otros pacientes con el mismo tratamiento y con el personal de atención de la unidad renal, sino que tiene un contacto frecuente con los hospitales por sus comorbilidades y también con sus cuidadores, su familia y la comunidad en general. De esta manera, el uso de dispositivos endovasculares con alta posibilidad de desarrollo de biopelícula e infección de difícil control y la necesidad de manipulación en el cuidado por parte de personal de salud y familiares, llevan

a que los pacientes sean reservorios que favorecen el intercambio bacteriano entre el ambiente hospitalario y la comunidad (Figura 1):



**Figura 1.** Diseminación de bacterias resistentes entre la unidad renal, el hospital y la comunidad (Construcción Dr. Gustavo Roncancio, Médico Infectólogo, Clínica CardioVid)

### **3.6. Prevención de la colonización y de las infecciones bacterianas en los pacientes en hemodiálisis**

Las recomendaciones dadas por el CDC (del inglés, Centers for Disease Control and Prevention) para prevenir la transmisión son generales y no son específicas para bacterias multirresistentes (129). Estas recomendaciones están basadas principalmente en evitar la transmisión, especialmente el uso de guantes y batas por el personal de atención, la limpieza de equipos y superficies, la preparación de medicamentos en zonas limpias, la optimización de antibióticos y la educación de pacientes y personal de atención en salud (129). Sin embargo, dada la complejidad del problema de la resistencia antimicrobiana, es necesaria la implementación de otras estrategias que logren de forma más efectiva el control del problema (1).

Algunas de estas estrategias consisten en la de-escalación de antibióticos como vancomicina (utilizado de forma inapropiada como tratamiento dirigido en más del 10% de los casos), el uso de fístulas en vez de catéteres en los casos que sea posible, las precauciones de contacto en los pacientes colonizados o infectados y la decolonización; siendo la utilización de esta medida controversial porque a pesar de la



evidencia en la reducción de infecciones invasivas por *S. aureus*, puede incrementar el riesgo de desarrollo de resistencia y el conocimiento sobre los antibióticos, la duración y la frecuencia del tratamiento es aún limitado (1, 130).

A pesar de estas estrategias de prevención, los porcentajes de infección por bacterias sensibles y resistentes en los pacientes en diálisis continua en aumento, lo que lleva a la necesidad de conocer otros factores de riesgo que puedan ser intervenidos para evitar la transmisión de estos microorganismos dentro de las unidades renales (1).

### **3.7. Utilidad de la epidemiología molecular en el estudio de la diseminación bacteriana**

La integración de las técnicas de biología molecular con la epidemiología tradicional ha dado lugar a una rama de la epidemiología denominada “*epidemiología molecular*”, la cual utiliza las ventajas que ofrece la biología molecular para definir la distribución de las enfermedades e identificar factores de riesgo en las poblaciones (44, 45). La epidemiología molecular surge como una herramienta útil para la evaluación de la diseminación de bacterias en el hospital y la comunidad, debido a que permite una evaluación más precisa del comportamiento y transmisión de los agentes infecciosos, con el fin de identificar la emergencia de genotipos de importancia clínica, conocer su distribución en tiempo, persona y lugar, comparar los perfiles genéticos de los aislamientos bacterianos y establecer la relación genética entre los aislados circulantes (44, 131).

Entre los métodos de biología molecular aplicados en epidemiología sobresalen la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE, del inglés *pulse-field gel electrophoresis*), la tipificación de la proteína A (*spa typing*) y la tipificación de secuencias intergénicas repetidas (ERIC, del inglés *enterobacterial repetitive intergenic consensus*) para estudios de epidemiología local. Además, la tipificación de secuencias de múltiples locus (MLST, del inglés *multilocus sequence typing*), es frecuentemente utilizada para la comparación de clones en epidemiología global (44, 131).

#### **3.7.1. Electroforesis en gel de campo pulsado**

Fue descrita inicialmente en 1984, como una herramienta para estudiar el ADN cromosómico en organismos eucariotas; sin embargo, en los años posteriores la electroforesis de campo pulsado ha

demostrado ser un método de tipificación molecular altamente efectivo para tipificar una gran cantidad de especies bacterianas evidenciando superioridad con relación a otras técnicas (44). En esta técnica se utiliza una enzima de restricción de baja frecuencia que corta el genoma bacteriano en sitios específicos generando un patrón de bandas. El ADN es embebido en bloques de agarosa con el fin de que los cortes generados sean realmente por la presencia de la enzima y no por daño mecánico durante la manipulación de las muestras. Una vez es utilizada la enzima de restricción, las muestras son ubicadas en un gel de agarosa que se pone en un equipo que emite pulsos en diferentes direcciones para favorecer la migración del ADN (131). La PFGE continúa siendo el “estándar de oro” para estudios de epidemiología local como los brotes hospitalarios y también para evaluar la transmisión entre instituciones hospitalarias. Es uno de los métodos de tipificación con mayor poder de discriminación, ya que permite detectar pequeñas variaciones en el genoma, tales como deleciones, inserciones, pérdida o adquisición de plásmidos que se acumulan rápidamente en el tiempo (44). Dentro de sus desventajas se resalta el alto tiempo requerido para el procesamiento de las muestras y su baja reproducibilidad (132-134).

### **3.7.2. Tipificación de la proteína A**

Consiste en la amplificación y posterior secuenciación de la región polimórfica X, que corresponde a una secuencia corta y repetida del gen que codifica para un superantígeno de *S. aureus* denominada proteína A. Esta región es altamente polimórfica por lo cual esta técnica tiene alto poder de discriminación. La tipificación de spa se obtiene de un solo locus, en contraste con MLST que combina la información de siete locus, lo que hace que esta última sea mucho más costosa (135).

### **3.7.3. Tipificación de secuencias intergénicas repetidas**

Esta técnica está basada en la amplificación de secuencias palindrómicas de ADN con un tamaño alrededor de 127-pb, que están comprendidos entre dos secuencias repetitivas. Las secuencias corresponden a regiones intergénicas que usualmente separan regiones de transcripción. Hay diferente número de copias de estas secuencias en cada especie bacteriana, por lo que el patrón de bandas observado resulta de la variabilidad en la repetición a lo largo del genoma y del cambio en el tamaño debido a la presencia de inserciones o deleciones (136).

#### **3.7.4. Tipificación de secuencias de múltiples locus**

Con esta técnica se analizan las secuencias de siete genes constitutivos, los cuales poseen una baja tasa de variabilidad genética en el tiempo (131). Una vez los genes son secuenciados, cada secuencia se ingresa a bases de datos disponibles en internet con el fin de generar un perfil alélico denominado tipo de secuencia o ST (del inglés, *sequence type*) (137). La relación entre los ST puede ser determinada por algoritmos como el eBURST, el cual permite inferir patrones evolutivos de descendencia a través de un modelo de expansión clonal y diversificación, mediante la asignación de complejos clonales (CC, del inglés *clonal complex*) (137). Por la disponibilidad de las bases de datos en internet para el análisis de las secuencias, el MLST ha favorecido el intercambio y la reproducibilidad de la información a través de todo el mundo. Por la baja variabilidad de los genes amplificados, esta técnica es utilizada para estudios de epidemiología global, con el fin de detectar cambios que se generen en largos periodos de tiempo. Sus desventajas incluyen el alto costo y el tiempo requerido para el procesamiento de cada muestra (131).

#### **3.8. Situación local y nacional**

En Colombia se han realizado diferentes estudios sobre infección por SARM y algunos sobre bacilos Gram negativos multirresistentes en pacientes hospitalizados, pero pocos sobre colonización. Sin embargo, el conocimiento sobre el comportamiento de la colonización en poblaciones susceptibles como lo es la población en hemodiálisis aún es limitado. En el país, la mayoría de estudios sobre colonización nasal por *S. aureus* han sido realizados en ambientes hospitalarios y principalmente en personal de salud. Entre las primeras publicaciones sobre el tema se destacan la realizada por García AM et al. en el 2003 en que se evalúan pacientes sometidos a cirugía cardiovascular, donde encontraron una prevalencia de colonización por *S. aureus* del 34% (138). Sin embargo, solo hasta el 2010 se publica el primer reporte de aislamientos colonizantes de SARM ST8-SCCmec IVc relacionado genéticamente con el clon pandémico USA300-0114 en Colombia (139).

En Medellín, en el 2004 se realizó un estudio de colonización en personal de UCI de una clínica de la ciudad que halló un porcentaje de colonización del 6.7% por SARM y en el 2010 se documentó la presencia de SARM colonizando manos de la población general (140, 141).

Estudios realizados por nuestro grupo de investigación han logrado establecer la capacidad de diseminación de *S. aureus* en ambientes hospitalarios y en comunidad mediante la implementación de herramientas moleculares. De esta forma, se demostró que las cepas SARM tradicionalmente asociadas a comunidad y que presentan mayor capacidad de virulencia y de diseminación, están llegando a ser predominantes en los hospitales de Medellín y están desplazando clones característicos de los asociados al hospital (76, 142, 143). Así mismo, en el 2014 se reportó un porcentaje de colonización por SARM en niños del 5.3%, en quienes el uso previo de antibióticos betalactámicos se encontró como una de las características predominantes (144). Para el año 2015, el Grupo para el Estudio de la Resistencia a Antibióticos en Medellín (GERMEN) reportó un porcentaje de resistencia a meticilina en aislados de *S. aureus* de alrededor del 25% tanto en UCI como en salas diferentes y esta bacteria continúa siendo una de las más frecuentes en infecciones asociadas a la atención en salud y adquiridas en la comunidad (145).

Con relación a los bacilos Gram negativos multirresistentes, se encontró un porcentaje de colonización intestinal por enterobacterias productoras de BLEE hasta del 21.3% en niños hospitalizados o atendidos en consulta externa de un hospital de Bogotá, siendo *K. pneumoniae* la bacteria aislada con mayor frecuencia (146). Así mismo, se han identificado algunos factores asociados con la infección o colonización por bacterias productoras de estas enzimas en pacientes hospitalizados, resaltando el antecedente de uso de antibióticos en los tres meses anteriores (OR=2,24; IC 95%, 1,09-4,60; p=0,028), el origen hospitalario de la infección (OR=2,92; IC 95%, 1,39-6,13; p=0,004) y la hospitalización previa (OR=1,59; IC 95%, 1,03-2,46; p=0,036) (147).

La resistencia a carbapenémicos es aún más preocupante, dado que desde el año 2006 se ha observado un aumento significativo de esta resistencia en bacterias como *K. pneumoniae* (40). En este año se reportaron los primeros dos casos de *K. pneumoniae* productores de KPC-2 de Suramérica, provenientes de una institución de alto nivel de complejidad de Medellín (148). Posteriormente, en el 2007 se realizó el primer reporte mundial de esta misma carbapenemasa en un aislamiento de *P. aeruginosa* que provenía de la misma institución (39). En los años posteriores la situación empeoró, al presentarse en el 2008 un brote conformado por 84 pacientes de una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), los cuales representaron los primeros reportes de KPC-3 en Colombia (149). En la actualidad, KPC es el mecanismo de resistencia a carbapenémicos más frecuente en *K. pneumoniae*, presentándose en más del 90% de los casos, con porcentajes de colonización que alcanzan hasta el 17.7% en pacientes con enfermedades como cáncer

(29) (150). Esta enzima también ha sido observada en otras enterobacterias como *E. coli*, *E. cloacae* y *S. marcescens*, evidenciando la capacidad de diseminación de una bacteria a otra (151). Para el año 2012 se reportó en el país el primer brote de *K pneumoniae* portando NDM en seis pacientes hospitalizados en una unidad neonatal en Bogotá, enzima que origina altos valores de MIC para la mayoría de antibióticos disponibles (152).

La resistencia a carbapenémicos también ha sido observada en bacilos Gram negativos no fermentadores como *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, con porcentajes de resistencia alrededor del 33% y del 90%, respectivamente, en unidades de cuidados intensivos (153). En el año 2007 se realizó en el país, el primer reporte mundial de *P. aeruginosa* portando KPC en un aislado de la ciudad de Medellín y el primer reporte mundial de un aislamiento portando simultáneamente KPC y VIM en un paciente con una infección intra-abdominal (39, 154). Por su parte, en *A. baumannii* se ha implicado a la carbapenemasa OXA-23 como el mecanismo responsable de la resistencia a carbapenémicos en los aislamientos que circulan en el país, mecanismo reportado en otros países latinoamericanos como Argentina (155-157).

Medellín es una ciudad que registra unos de los mayores porcentajes de bacilos Gram negativos productores de betalactamasas en comparación con otras ciudades del país y ha sido pionera en el reporte de mecanismos de resistencia en *P. aeruginosa* a nivel mundial (158-159). Según el grupo GERMEN, la frecuencia de BLEE para el año 2014 en la ciudad fue de alrededor del 13% y del 9% para *E. coli* y del 20% y 14% para *K. pneumoniae* en pacientes hospitalizados y ambulatorios, respectivamente (158). La resistencia a carbapenémicos es más notable en bacilos no fermentadores superando el 30% para *A. baumannii* y una frecuencia menor para *E. coli* que no supera el 5%; con un incremento para bacterias como *K. pneumoniae*, *E. cloacae* y *S. marcescens* desde el año 2007 (29). Carbapenemasas como KPC (en *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*), NDM y OXA-23 (en *A. baumannii*) y VIM (en *P. aeruginosa*), han sido documentadas (159). En Medellín, la ejecución de proyectos de investigación de nuestro grupo, ha permitido hacer seguimiento de mecanismos de resistencia y clones resistentes a través del tiempo en diferentes modelos bacterianos. Trabajos enfocados en bacilos Gram-negativos resistentes a carbapenémicos en hospitales de la ciudad permitieron detectar un aumento de cepas *P. aeruginosa* portadoras de KPC con una alta diversidad inter-hospitalaria, más no al interior de cada institución en donde se encontraron aislamientos con características propias. La mayoría de estos aislamientos pertenecían al clon exitoso a nivel mundial denominado ST235, el cual se ha reportado en

varios países de Europa y Asia (159). Otro hallazgo importante ha sido la caracterización molecular de aislados de cepas de *K. pneumoniae* en hospitales la ciudad (160) y la descripción de emergencia de cepas de *K. pneumoniae* diferentes al clon exitoso reportado a nivel mundial: el ST258 y la frecuencia similar de KPC-2 y KPC-3 en estos aislamientos (161). Así mismo, se ha reportado que el uso de meropenem, cefepime y ciprofloxacina y la presencia de sonda vesical aumentan el riesgo de infecciones por *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos. Adicionalmente, resultados de estudios de cohorte han evidenciado que los pacientes con infecciones por esta bacteria tienen una menor supervivencia en comparación con los pacientes con infecciones por aislados sensibles a carbapenémicos (RR: 0.44, 95%CI 0.24–0.82) (162). Los resultados anteriores demuestran que la epidemiología de las bacterias resistentes depende de las características propias de cada región e incluso de cada hospital y resalta la importancia de conocer el comportamiento del problema de resistencia en la comunidad. Más aún cuando la mayoría de los estudios han sido realizados en hospitales o con aislados que solo están causando infección, llevando a que el conocimiento sobre la colonización y circulación de bacilos resistentes aún permanezca limitado.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo general

Analizar el comportamiento en el tiempo de la colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos, sus factores asociados y su efecto en el desarrollo de bacteriemia en una cohorte de pacientes dependientes de hemodiálisis

### 4.2. Objetivos específicos

1. Describir las características clínicas y demográficas de los pacientes en hemodiálisis, según la presencia de colonización por bacterias sensibles y resistentes a antibióticos betalactámicos

Para este objetivo se describieron variables que permiten caracterizar la población de estudio en la línea basal, de acuerdo a la presencia o no de la colonización. Las características evaluadas incluyeron: (i) variables demográficas como la edad, el sexo y el estrato socioeconómico; (ii) características relacionadas con la atención en salud como el antecedente de hospitalización, uso de antibióticos, comorbilidades y cirugías previas y (iii) características relacionadas con la hemodiálisis como el tipo de catéter y el tiempo en este tratamiento.

2. Determinar el comportamiento en el tiempo y los factores asociados con la colonización por bacterias sensibles y resistentes a antibióticos betalactámicos

El propósito de este objetivo fue, en primer lugar, analizar la dinámica de la colonización en el tiempo y clasificarla en términos de persistente, intermitente o ausente; según los resultados obtenidos por los métodos fenotípicos. Para esto se incluyó el estado de colonización observado en las tres tamizaciones: al inicio del estudio, al mes dos y a los seis meses después. En segundo lugar, se analizaron los factores asociados con el cambio de la colonización en el tiempo, siendo ésta el desenlace de interés. Las exposiciones evaluadas incluyeron el tiempo en diálisis, el uso de antibióticos, el tabaquismo actual, la presencia de comorbilidades, el índice de Karnofsky, el tipo de catéter y el antecedente de hospitalización y de infecciones. En el caso de la colonización por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos se evaluaron, además de las variables

anteriores, la frecuencia del consumo de carne de cerdo y de pollo. La asociación de cada exposición con el desenlace de interés fue evaluada en un modelo diferente, ajustado por variables de confusión. Éstas últimas fueron seleccionadas de acuerdo a lo reportado previamente en la literatura y al diagrama causal que representa la relación entre cada exposición y la colonización por bacterias sensibles y resistentes a antibióticos betalactámicos.

3. Analizar la asociación entre la colonización por bacterias sensibles y resistentes a antibióticos betalactámicos y el desarrollo de bacteriemia

Con este objetivo se buscaba analizar el efecto de la colonización por *S. aureus* y bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos en el desarrollo de bacteriemia. La exposición principal fue la colonización por las bacterias mencionadas y los desenlaces el tiempo hasta la primera bacteriemia y la recurrencia de infección. Para este análisis, se incluyó la naturaleza dependiente del tiempo de la colonización, considerando los resultados en el nivel basal y en las tamizaciones posteriores. Las variables de confusión incluyeron variables fijas como el índice de Charlson, el tiempo en diálisis, el tipo de catéter y la presencia de fístula. Así mismo se incluyeron variables que podían cambiar en el tiempo, las cuales fueron medidas en las tres observaciones, tales como la albúmina, el uso de antibióticos y el antecedente de hospitalización. De manera similar con el objetivo 2, estas variables de confusión fueron seleccionadas de acuerdo con lo reportado previamente en la literatura y al diagrama causal entre la colonización y el desarrollo de bacteriemia.

4. Determinar los desenlaces clínicos: necesidad de hospitalización, estancia hospitalaria y muerte en los pacientes que desarrollen bacteriemia

Con este objetivo se pretendía conocer el pronóstico de los pacientes con bacteriemia, además si la colonización podría ser una condición que lleva a mayor estancia hospitalaria y a eventos adversos como la muerte. Para lo anterior, se describieron los desenlaces necesidad de hospitalización, días de estancia hospitalaria y muerte en todos los pacientes infectados y se compararon según la presencia o no de colonización.



5. Caracterizar los mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos y establecer el grado de relación genética entre las bacterias detectadas en los pacientes colonizados e infectados

Debido a que el estudio se realizó bajo el enfoque de la epidemiología molecular, este objetivo fue transversal a los primeros tres objetivos y buscaba analizar los siguientes aspectos:

- Para el objetivo 1: evaluar si existe diseminación horizontal (paciente-paciente) de las bacterias colonizantes y conocer los clones circulantes en la unidad renal
- Para el objetivo 2: analizar la relación genética de los aislados obtenidos de los pacientes colonizados de manera persistente, con el fin de validar si pertenecían o no al mismo clon.
- Para el objetivo 3: confirmar si los clones que colonizaron fueron los mismos que causaron bacteriemia, para concluir si la infección era o no endógena.

Para lo anterior, se utilizaron métodos de tipificación molecular, como PFGE, la tipificación de la proteína A, ERIC y MLST.

## **5. HIPÓTESIS CONCEPTUAL**

La frecuencia de colonización por *S. aureus* es similar a la colonización por bacilos Gram negativos resistentes a cefalosporinas de tercera generación productores de BLEE y la diseminación de los aislados colonizantes se presenta de manera horizontal (paciente-paciente). Por otro lado, la colonización por estos microorganismos se comporta de manera cambiante a lo largo del tiempo y se presenta principalmente de manera intermitente. Así mismo, el tiempo en diálisis, el uso de antibióticos, el tabaquismo actual, la presencia de comorbilidades, el índice de Karnofsky, el tipo de catéter, el antecedente de hospitalización y las infecciones previas pueden aumentar el riesgo de estar colonizado. La colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos aumenta además el riesgo de bacteriemia de manera significativa y esta asociación no solo se presenta con el tiempo hasta la primera bacteriemia, sino con el número de recurrencias por paciente. Los aislados que causan bacteriemias son las mismas cepas que colonizan por lo que las infecciones pueden ser consideradas como endógenas.

## 6. METODOLOGÍA GENERAL

### 6.1. Tipo de estudio

Para determinar el comportamiento en el tiempo y los factores asociados con la colonización, se planteó un estudio de cohorte con medidas repetidas teniendo como desenlace la colonización por *S. aureus* o por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos. Por otro lado, para el análisis de la asociación entre colonización y bacteriemia se diseñó un estudio de cohorte prospectiva, tomando como exposición la colonización por *S. aureus* o por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos y como desenlace el desarrollo de bacteriemia.

#### 6.1.1. Estudio de cohorte con medidas repetidas

**Desenlaces:** Colonización por los siguientes microorganismos sensibles y resistentes a antibióticos betalactámicos:

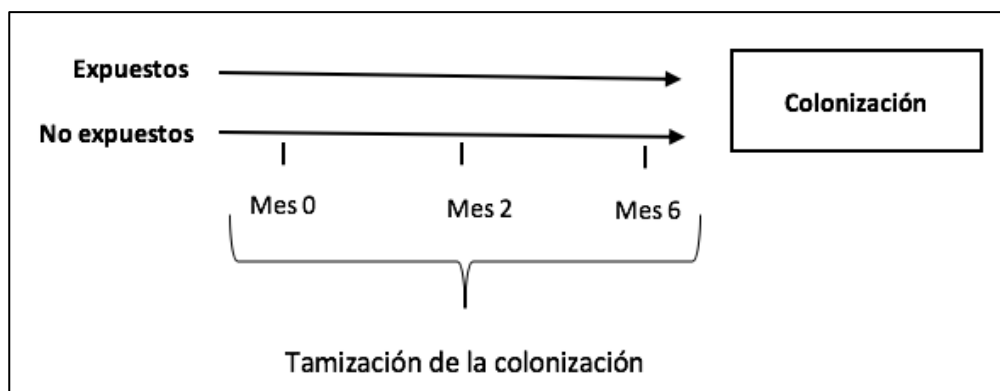
- *Staphylococcus aureus* (sensible y resistente a meticilina) en fosas nasales y en piel alrededor de la inserción del catéter de hemodiálisis
- Bacilos Gram negativos resistentes a cefalosporinas de tercera generación y productores de betalactamasas de espectro extendido (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*) en materia fecal
- Bacilos Gram negativos resistentes a carbapenémicos (enterobacterias y bacilos no fermentadores de glucosa) en materia fecal

La colonización fue definida como la presencia de microorganismos en los sitios corporales mencionados, sin signos ni síntomas de enfermedad, según los criterios establecidos por el CDC (163).

El estado de la colonización fue evaluado en tres momentos: al inicio del estudio, al mes dos y a los seis meses después del inicio (Figura 2). Además, fue clasificada como ausente, persistente o intermitente en los pacientes que completaron las tres tamizaciones y según los resultados obtenidos por las pruebas fenotípicas, así:

- Colonización persistente: Tres cultivos de tamización positivos para la misma bacteria sensible o resistente a betalactámicos
- Colonización intermitente: Uno o dos cultivos de tamización positivos para la misma bacteria sensible o resistente a betalactámicos
- Ausencia de colonización: Ningún cultivo de tamización positivo para la presencia de bacterias sensibles o resistentes a betalactámicos

**Exposiciones y covariables:** Para la colonización por *S. aureus* (sensible y resistente a meticilina) se evaluaron el tiempo en diálisis, el uso de antibióticos en los últimos 6 meses, tabaquismo actual, la presencia de comorbilidades (medida con el índice de Charlson), el índice de Karnofsky, hospitalización en los últimos 6, infección previa por *S. aureus* y tipo de catéter. De manera similar, para la identificación de factores asociados con la colonización por bacilos Gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido, se evaluaron como exposiciones: el índice de Charlson, el índice de Karnofsky, el tipo de catéter, la historia de hospitalización, historia de infección en los últimos 6 meses por este grupo de microorganismos, uso de antibióticos, estancia en ancianatos y el consumo de carne, pollo y agua. Cada exposición fue evaluada con un modelo diferente, ajustado por las variables de confusión (variables asociadas con la exposición y con la colonización por cada microorganismo, sin estar en la vía intermedia causal) según lo sugerido por la literatura (21, 96, 97, 105, 164-166).

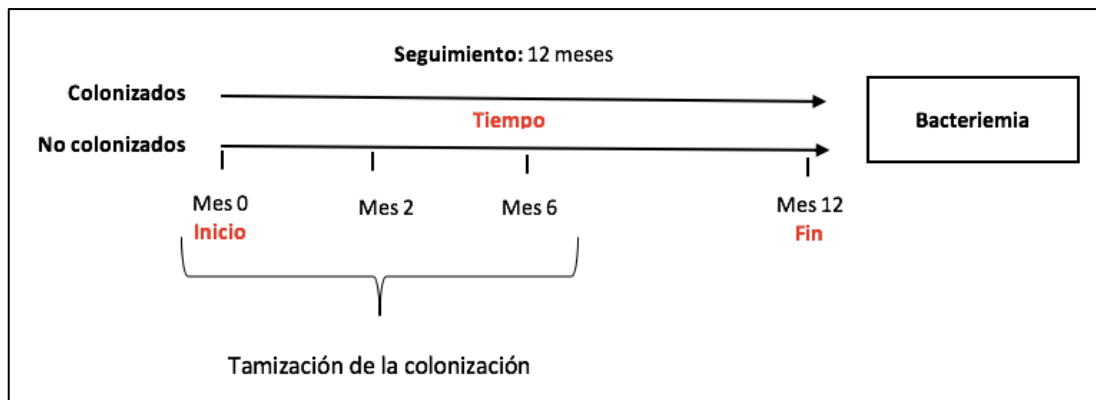


**Figura 2.** Diseño cohorte con medidas repetidas para la evaluación de factores asociados con el cambio de la colonización en el tiempo

### 6.1.2. Estudio de cohorte prospectiva

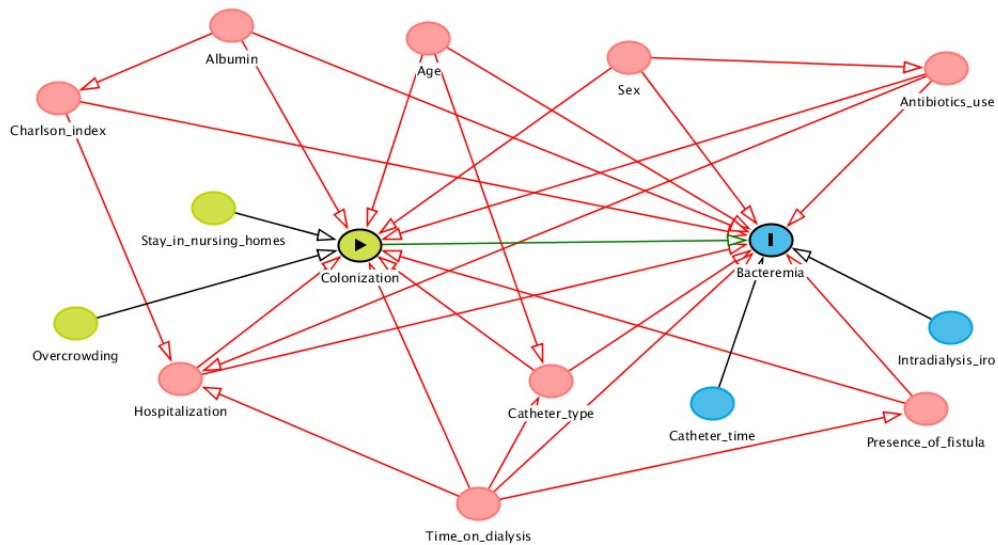
**Desenlaces:** El desenlace principal fue el tiempo hasta la primera bacteriemia causada por cualquier bacteria durante un periodo de seguimiento de 12 meses (Figura 3). Así mismo, dado que la bacteriemia puede ser un evento que es recurrente, se analizó la asociación entre la colonización y el número de bacteriemias presentadas por cada paciente. La bacteriemia fue definida como la presencia de fiebre, escalofrío o hipotensión con crecimiento bacteriano en hemocultivos y no relacionado con una infección en otro sitio corporal, según los criterios definidos por el CDC (167, 168). La bacteriemia causada por bacterias comensales comunes como *Staphylococcus epidermidis*, fue incluida si el microorganismo era identificado en al menos dos muestras de sangre (167, 168).

**Exposiciones:** Colonización por *S. aureus* (sensible o resistente a meticilina) o por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos. Para el análisis se incluyeron tanto el estado de colonización basal (inicio del estudio), como también el estado de la colonización al mes 2 y al mes 6.



**Figura 3.** Diseño de cohorte prospectiva para la evaluación de la asociación entre colonización y bacteriemia

**Covariables:** Se incluyeron como variables de confusión aquellas sugeridas por la literatura y por el diagrama causal de la asociación entre la colonización y bacteriemia (Figura 4) (4, 14, 93, 96, 97, 165, 169-172). De esta manera, se consideraron variables fijas como el índice de Charlson, el tiempo en diálisis y el tipo de catéter. Por otro lado, se incluyeron como variables dependientes del tiempo la albúmina, el cambio a fístula durante el seguimiento, el uso de antibióticos y el antecedente de hospitalización; las cuales fueron medidas al inicio del estudio, al mes 2 y al mes 6.



**Figura 4.** Diagrama causal de la asociación entre la colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos y el desarrollo de bacteriemia

## 6.2. Población

- Población de referencia: Se asumió como población de referencia los pacientes con falla renal crónica dependientes de hemodiálisis de la ciudad de Medellín.
- Población de estudio: Pacientes con falla renal crónica dependientes de hemodiálisis atendidos en la unidad renal Fresenius Medical Care, Hospital San Vicente Fundación de Medellín, durante el periodo comprendido entre octubre 2017 y octubre 2018.
- Unidad de análisis: La unidad de análisis estuvo conformada por pacientes con falla renal crónica que se encontraban en hemodiálisis en la unidad renal mencionada.

## 6.3. Sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en la unidad renal Fresenius Medical Care, Hospital San Vicente Fundación de la ciudad de Medellín. La unidad cuenta con 72 sillas para hemodiálisis y provee terapia de hemodiálisis a cerca de 350 pacientes adultos al mes. Los pacientes son divididos en seis salas y reciben tratamiento tres veces por semana en uno de los seis turnos ofrecidos.

## **6.4. Criterios de inclusión y exclusión**

### **6.4.1. Criterios de inclusión**

- Edad mayor o igual a 18 años
- Presencia de catéter venoso central
- Enfermedad renal crónica dependiente de hemodiálisis
- Terapia renal durante cuatro semanas continuas o falla renal crónica terminal

### **6.4.2. Criterios de Exclusión**

- Tener previsto un cambio de la unidad de diálisis en los próximos 12 meses
- Presencia de infección activa que requiera tratamiento antibiótico sistémico (oral o parenteral) al momento de la primera observación
- Expectativa de vida inferior a dos meses
- Enfermedad neurológica o psiquiátrica que interfiera con el buen juicio, autodeterminación o la capacidad para tomar decisiones
- Estado de salud que dificulte dar respuesta al formulario de recolección de información
- Cambio inminente de modalidad de diálisis: hemodiálisis a diálisis peritoneal, por ser la hemodiálisis la modalidad de nuestro interés
- Cambio inminente de residencia programado en los próximos 12 meses

## **6.5. Tamaño de la muestra**

Teniendo en cuenta que a nivel local no se dispone de datos sobre el riesgo de bacteriemia según el estado de colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos en pacientes en hemodiálisis, el tamaño de muestra y la potencia estadística fueron estimadas de acuerdo con lo reportado en estudios previos realizados en otros países (13, 15, 173-177) (Tabla 2).

Tomando como referencia el estudio de Lai et al (176), se calculó la potencia estadística para un tamaño de muestra de 200 pacientes, según la plausibilidad con el tiempo y presupuesto previstos para esta

investigación. De esta manera, asumiendo un HR=1.84, una significación bilateral del 5% y una razón expuestos/no expuestos de 1/2, se estimó una potencia de 94.66%. Por lo anterior, se consideró que un tamaño de muestra de, al menos, 200 pacientes era adecuado para la obtención de resultados válidos en el estudio.

**Tabla 2.** Cálculo de la potencia estadística con diferentes tamaños de muestra y medidas de efecto

TAMAÑO DE MUESTRA	RIESGO							
	HR=1.3	HR=1.5	HR=1.8	HR=2.0	HR=2.3	HR=2.5	HR=3.0	
	n=90	19.99	38.86	64.55	76.53	87.59	91.84	96.95
	n=100	21.55	42.03	68.69	80.35	90.43	94.04	98.03
	n=130	26.72	51.91	79.77	89.48	96.15	98.01	99.57
	n=150	30.27	58.13	85.37	93.37	98.03	99.11	99.86
	n=170	33.33	63.04	89.05	95.61	98.92	99.56	99.95
	n=200	38.20	70.16	93.35	97.84	99.61	99.87	99.99
	n=250	46.01	79.66	97.26	99.38	99.94	99.99	100

## 6.6. Muestreo y plan de recolección de información

Los pacientes fueron elegidos tomando como marco muestral los registros de la unidad renal y de acuerdo con el cumplimiento de los criterios de elegibilidad. Una vez los pacientes indicaban su intención de participar, se solicitó la firma del consentimiento informado (Anexo 1) y se entregó una copia física del mismo a cada uno de ellos. Durante este primer contacto, también fueron informados sobre los procedimientos de toma de muestra, las fechas de recolección y sobre la información clínica y epidemiológica que sería solicitada. Adicionalmente, se entregaron los recipientes de recolección de materia fecal para la primera tamización. Para las tamizaciones posteriores, cada participante recibió un recordatorio por vía telefónica tres días previos a la toma de las muestras con el fin de que estuvieran informados sobre los procedimientos que serían realizados antes de la sesión de hemodiálisis y de recordarles sobre la recolección de la muestra de materia fecal. Posteriormente, cada muestra fue enviada

al Laboratorio Central de la Escuela de Microbiología, donde se realizó el análisis microbiológico y molecular de los aislados bacterianos.

### **6.7. Fuentes de información y procedimiento para la recolección de la información clínica**

La recolección de información clínica y epidemiológica fue realizada a partir de un formulario diseñado y validado por el grupo de investigación para tal fin (Anexo 2), el cual incluyó características relacionadas con: (i) el individuo (sexo, edad, hábitos alimenticios), (ii) la exposición al entorno hospitalario (antecedentes clínicos, hospitalizaciones previas, uso de antibióticos, estancia en UCI, tratamientos médicos, comorbilidades y presencia de dispositivos invasivos) y (iii) la exposición a la unidad renal (tiempo de diálisis, tipo de catéter, tiempo catéter). La definición y operacionalización de éstas y las demás variables que se utilizarán en el estudio son presentadas en los Anexos 3 y 4. Las fuentes para la recolección de la información incluyeron los pacientes o acompañantes, la historia clínica electrónica de la unidad renal y copias de epicrisis entregadas por los pacientes, los cuales fueron manejados de forma confidencial. La información fue recolectada por dos encuestadores con formación en microbiología, quienes recibieron entrenamiento y estandarización previa.

### **6.8. Toma de muestras**

- *Staphylococcus aureus*: La tamización para evaluar la colonización por *S. aureus* fue realizada en fosas nasales y piel alrededor de la inserción del catéter mediante un hisopo estéril de algodón que fue impregnado en solución salina 0.9%. Durante la toma de muestra se realizó una rotación del hisopo de dos a tres veces en cada región e inmediatamente fue inoculado en el medio de transporte Amies con carbón activado. Un solo hisopo fue utilizado para ambas fosas nasales y otro usado para la toma de muestra en piel.

- Bacilos Gram negativos: La colonización intestinal por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos fue evaluada mediante una muestra de materia fecal recolectada directamente por cada participante. El equipo investigador suministró el recipiente para la toma de la muestra y brindó las indicaciones para la recolección y refrigeración.



## 6.9. Transporte de las muestras

Los hisopados nasales y de piel fueron depositados inmediatamente después de la toma de las muestras en el medio de transporte Amies con carbón activado (Sterile Transport Swab, Copan, Brescia, Italy). Posteriormente, estos medios de transporte y la muestra de materia fecal entregada por el paciente se almacenaron en neveras portátiles a 4°C. Las muestras recolectadas fueron enviadas al Laboratorio Central de Investigación de la Escuela de Microbiología durante las primeras cuatro horas después de la recolección o entrega, en donde fueron procesadas de forma inmediata.

## 6.10. Cultivo y aislamiento microbiológico

- *Staphylococcus aureus*: Cada muestra fue cultivada en el agar manitol sal e incubada a 37°C entre 20-24 horas. Las colonias fermentadoras de manitol y con morfología sugestiva de *S. aureus* fueron cultivadas en agar sangre para la realización de catalasa y coagulasa y la posterior realización de pruebas moleculares que permitieran la confirmación de especie y la resistencia a meticilina (93, 144).

- Bacilos Gram negativos: Cada muestra de materia fecal se sembró en el medio de enriquecimiento tripticosa soya caldo, con una temperatura de incubación de 35-37°C y durante 20-24 horas. Posteriormente, se tomaron 10 µl que fueron sembrados en dos medios cromogénicos validados por estudios previos: uno de ellos selectivo para el crecimiento de bacilos Gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido (ChromID ESBL, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) y otro selectivo para el crecimiento de bacilos Gram negativos resistentes a carbapenémicos (ChromID CARBA agar, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). El agar ChromID ESBL es un medio selectivo para el crecimiento de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido como *E.coli*, *Klebsiella* spp. y *Proteus* spp, *Provincia* spp. Por su parte, el ChromID CARBA, es un medio selectivo para *E.coli*, *Klebsiella* spp. *Enterobacter* spp, *Serratia* spp y *Citrobacter* spp productoras de carbapenemasas (115, 178, 179). Además de los medios cromogénicos, se utilizó el método del CDC con disco de meropenem para la tamización de bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa resistentes a carbapenémicos y la confirmación del crecimiento de enterobacterias resistentes a estos antibióticos (180).

## **6.11. Identificación bacteriana y pruebas de sensibilidad**

La identificación y sensibilidad de cada aislamiento bacteriano se realizaron utilizando el sistema automatizado Vitek-2 (bioMérieux), de acuerdo con los criterios establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2018) (181). La tarjeta de sensibilidad utilizada fue la AST-N272 para bacilos Gram negativos y la AST-P612 para *S. aureus*.

### **6.11.1. Confirmación molecular de especie y resistencia a meticilina en *S. aureus***

La extracción de ADN se realizó utilizando el kit comercial de extracción y purificación DNA Wizard Genomic Purification kit (Promega, Madison, WI, USA). La confirmación de especie y de la resistencia a meticilina fue realizada mediante la detección por PCR de los genes *nuc* y *mecA*, respectivamente, mediante protocolos previamente descritos (182, 183). La tipificación del cassette SCC*mec*, el cual es el elemento genético que contiene el gen *mecA*, se realizó por un conjunto de PCR múltiples para la detección de los tipos I-VIII (183, 184).

### **6.11.2. Detección fenotípica y molecular de betalactamasas en bacilos Gram negativos**

La extracción de ADN se realizó utilizando el kit comercial de extracción y purificación DNA Wizard Genomic Purification kit (Promega, Madison, WI, USA). Posteriormente, se procedió con la detección de betalactamasas de espectro extendido tipo CTX-M (por ser la más frecuente y diseminada en el ambiente hospitalario y en la comunidad) (78) y de los genes que codifican para las carbapenemasas KPC, IMP, NDM, VIM y OXA-48 mediante la utilización de diferentes protocolos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) previamente reportados (80-82).

## **6.12. Tipificación molecular de los aislados bacterianos**

Los aislados bacterianos obtenidos de los pacientes colonizados e infectados, fueron comparados con el fin de determinar la relación genética y clonal. Lo anterior permitió identificar si existía diseminación horizontal (paciente-paciente) de los aislados colonizantes en cada una de las tamizaciones, determinar la clonalidad o no en los aislados de los pacientes colonizados de manera persistente y confirmar si el aislado que colonizaba era el mismo que causaba bacteriemia.

Los métodos moleculares incluyeron PFGE, la tipificación de la proteína A, ERIC y MLST:

- PFGE: La preparación del ADN fue realizado según protocolos previamente descritos; se utilizaron las enzimas de restricción *XbaI* para enterobacterias, *SpeI* para *P. aeruginosa* y *SmaI* para *S. aureus* (185)(186). Para el corrido electroforético se utilizó el sistema Chef-DR III (Bio-Rad®). El grado de relación genética se analizó mediante el software BioNumerics version 3.0 (Applied Maths), usando el coeficiente de similitud de Dice, y el análisis UPGMA (Unweighted Pairs Geometric-Matched Analysis) para la construcción de dendogramas.
- Spa typing: La región polimórfica X de la proteína fue amplificada y secuenciada en un número representativo de aislados de *S. aureus* y los tipos de spa fueron asignados usando el sitio web (<http://www.spaserver.ridom.de/>) (187). Los complejos clonales (CC) fueron inferidos por análisis de los patrones repetidos y por la página de Ridom SpaServer (188).
- ERIC: La relación genética de los aislados de *E. coli* and *K. pneumoniae* fue evaluada usando ERIC-PCR, como fue previamente descrito (189). Los resultados fueron analizados por inspección visual y por medio del software BioNumerics version 6.0 (Applied Maths, SintMartens-Latem, Belgium), usando el índice de Dice y UPGMA. Los aislados con patrones idénticos fueron analizados posteriormente por PFGE para confirmar si pertenecían al mismo clon.
- MLST: El procedimiento y asignación de alelos se realizó de acuerdo con los protocolos descritos para cada bacteria y las bases centralizadas de MLST (<https://pubmlst.org/> y <https://bigsd.b.pasteur.fr/>) (190-194). Los aislados se seleccionaron de acuerdo con los cluster más representativos que fueron observados por PFGE, en el caso de *S. aureus*, y por ERIC, para los bacilos Gram negativos resistentes a carbapenémicos y a cefalosporinas de tercera generación productores de BLEE.

### 6.13. Prueba piloto

Todos los procedimientos desarrollados se evaluaron mediante una prueba piloto que fue realizada con 15 pacientes (5% del tamaño de muestra calculado). Los procedimientos incluyeron la selección e inclusión de los pacientes, la tamización de colonización, el transporte de muestras, la clasificación del estado de colonización, la recolección de información clínica y epidemiológica, los procedimientos

microbiológicos y el registro de la información en la base de datos. Para la prueba piloto, se realizó un seguimiento durante dos meses con dos tamizaciones: una en el momento del ingreso al estudio y la otra a los dos meses. Con base en los resultados obtenidos, se realizaron ajustes al instrumento de recolección de información y a los procedimientos para la inclusión de los pacientes.

#### **6.14. Procesamiento y análisis de datos**

La información recolectada en los formularios y los resultados de los análisis microbiológicos y moleculares fueron ingresados en una base de datos electrónica diseñada para tal fin en Microsoft Access, por un profesional en Gerencia en Sistemas de la Información en Salud. Durante la entrada de datos, se registraron en un formato los datos faltantes o inconsistentes en el formulario. Este formato se enviaba quincenalmente a los co-investigadores encargados de la recolección de información para su revisión y corrección. También se diseñaron procedimientos para evitar el ingreso de datos no válidos. Entre estos procedimientos se incluyeron: definición de valores y reglas de validación, como bloqueo en la duplicación de códigos, opción de autocompletar, saltos de campos e inactivación de campos. Cada uno de los registros fue revisados posteriormente, con el fin de encontrar errores de digitación u otras inconsistencias generadas durante el proceso de diligenciamiento de la base de datos. La información fue guardada en un computador de la Escuela de Microbiología con clave de acceso. El análisis estadístico de la información fue realizado con el programa estadístico STATA V.14, mediante la importación de la base de datos almacenada en Microsoft Access. El análisis estadístico realizado para cada objetivo se presenta en los capítulos de resultados.

#### **6.15. Control de calidad**

Se desarrolló un manual con procedimientos operativos estandarizados donde se incluyeron los procedimientos para la obtención de la información durante la ejecución del proyecto, incluyendo los protocolos para: la obtención del consentimiento informado, obtención de la información clínica y epidemiológica y los procedimientos utilizados en el laboratorio para la caracterización microbiológica y molecular de los mecanismos de resistencia y el grado de relación genética.

Antes de ingresar la información de cada participante en la base de datos se revisó que cumplieran todos los criterios de inclusión y exclusión. En caso de detectar datos inconsistentes se revisó la recolección de la información o se repitió el procesamiento de la muestra. Para el procesamiento en el laboratorio, se implementó el uso de controles positivos y negativos durante el montaje de cada prueba. Adicionalmente, se realizaron visitas de forma sorpresiva a los encuestadores y a los microbiólogos encargados de la recolección de las muestras, con el fin de verificar el cumplimiento del protocolo de investigación para estos procedimientos. Todas las inquietudes presentadas por las personas encargadas de la recolección de información fueron resueltas por consenso en el grupo de investigadores. Finalmente, cada uno de los registros ingresados a la base de datos fue revisado y se guardaron copias semanales con el fin de conservar la información.

## **6.16. Control de sesgos**

Los sesgos son particularmente prevalentes en estudios observacionales y por esto se requiere un cuidado riguroso de la calidad de los procedimientos y de la información:

### **6.16.1. Control de sesgos de selección**

- Sesgo de supervivencia: Este sesgo puede presentarse por la inclusión de pacientes con una expectativa de vida corta debido a que los pacientes que están en diálisis pueden tener múltiples comorbilidades y condiciones que pueden afectar su pronóstico clínico. Una de las principales dificultades de los estudios de cohorte está relacionada con las pérdidas durante el seguimiento y si se incluyen pacientes con una expectativa de vida corta, no solo se tendrían pérdidas, sino que se podrían inferir diferencias no válidas entre los grupos de expuestos y no expuestos con relación al desenlace. Para controlar este sesgo, se estableció como uno de los criterios de exclusión a los pacientes, que por concepto médico y de acuerdo a sus comorbilidades, fueron considerados por tener una expectativa de vida menor de dos meses. Adicionalmente, se recolectó información clave mediante un cuestionario corto en todos los pacientes censurados por muerte u otro tipo de pérdida, con el fin de encontrar en ellos patrones o características relacionadas con la exposición o el desenlace que pudieran ser diferentes a las encontradas en los pacientes que continuaron en el seguimiento.

- Sesgo relacionado con la representatividad de la muestra: Para asegurar que la población de estudio represente a la población objeto, se incluyeron pacientes en cada uno de los turnos de diálisis (mañana y tarde). Lo anterior, debido a que la mayoría de los pacientes que trabajan programan su turno al final de la tarde, por lo cual no incluirlos representaría un sesgo de selección para esta investigación.

#### **6.16.2. Control de sesgos de información**

- Sesgo de mala clasificación: Para la selección de los pacientes expuestos (colonizados) se requiere de medios de cultivo cromogénicos que son selectivos para el crecimiento de las bacterias resistentes a antibióticos betalactámicos que se buscaron en el estudio. Dichos medios de cultivo fueron validados en estudios previos y verificados en el laboratorio con muestras que contenían microorganismos conocidos.
- Sesgo por el instrumento de medición: El formulario para la recolección de los datos clínicos-epidemiológicos, fue diseñado y discutido por el grupo de investigación de la Universidad de Antioquia y los co-investigadores participantes de la unidad renal, incluyendo profesionales con experiencia en las áreas de epidemiología, estadística, infectología, microbiología y nefrología. De igual forma, para asegurar la consistencia en la recolección de los datos se diseñó un instructivo con definición de términos y de variables.
- Sesgo durante la medición: Con relación a las pruebas microbiológicas y moleculares, se realizó el mantenimiento y calibración de los equipos e instrumentos de laboratorio de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Este mantenimiento fue preventivo y se realizó tanto de forma interna (por integrantes del equipo investigador) como externa (fabricante). Con el fin de minimizar la variabilidad en los resultados obtenidos todos los procedimientos de laboratorio se realizaron con los mismos equipos.
- Sesgo del observador: La recolección de las muestras y la ejecución de los procedimientos de laboratorio fueron realizados por microbiólogos con formación y experiencia en el tema de resistencia a antibióticos. Así mismo, la recolección de la información clínica y epidemiológica se llevó a cabo por dos personas con experiencia en la revisión de historias clínicas y en

realización de encuestas. Todo el personal fue entrenado previamente por parte del equipo investigador a través de la realización de reuniones generales y de encuentros personalizados. Posteriormente se verificó la comprensión, mediante visita o verificación de la información suministrada. Adicionalmente, se realizaron reuniones con el equipo investigador y el personal encargado de todos los procedimientos, con el fin de resolver las dificultades que se presentaban. Para evitar sesgos del observador para la presentación del desenlace de interés, las personas encargadas de la recolección de la información y la determinación del estado de exposición estuvieron cegadas con respecto a la presentación de bacteriemia.

- Sesgo de memoria: Puede presentarse durante la aplicación del formulario al paciente, fue controlado mediante la utilización de fuentes de información secundarias como la historia clínica del paciente, la epicrisis y los registros de la unidad renal.

#### **6.17. Disposiciones vigentes y consideraciones éticas**

Esta investigación se ajusta a las normas éticas internacionales establecidas en el Código de Nuremberg, la Declaración de Helsinki, el informe Belmont, las recomendaciones de Buenas Prácticas Clínicas de la Organización Mundial de la Salud y las Pautas CIOMS 2009 para Estudios Epidemiológicos, con un impacto en salud pública en pro de la protección de los derechos humanos. Así mismo, está enmarcado en la Constitución Política de Colombia y en las Normas Científicas, Técnicas y Administrativas para la Investigación en Salud establecidas en la Resolución No. 8430 de 1993 del Ministerio de la Protección Social, respetando los principios de autonomía, confidencialidad, libertad y protección de la vida. Así mismo, fue aprobada por el Comité de Bioética para Investigación en Humanos de la Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia (Aprobación no. 17-65-689)

- **Riesgos y beneficios**: De acuerdo con la Resolución 8430 de 1993 este proyecto está clasificado como una investigación de riesgo mínimo para los participantes. En este sentido, no se realizaron procedimientos que implicaran un riesgo mayor que el beneficio esperado con los resultados de la investigación, ni intervenciones que modificaran aspectos biológicos, sociales o psicológicos de los participantes. Sin embargo, durante la investigación pudieron presentarse algunos riesgos para los participantes, los investigadores y para la unidad renal, así:

Con relación a los participantes, éstos pudieron sentir una leve molestia durante la toma de muestra nasal y de piel, la cual tuvo una duración de aproximadamente 3 a 5 minutos. Así mismo, la realización de esta investigación pudo implicar riesgos psicológicos para los pacientes y sus convivientes después de conocer un resultado positivo de colonización, lo cual fue mitigado por el equipo investigador mediante el manejo confidencial de la información y la explicación que el proceso de colonización microbiana que se da de forma natural en el cuerpo humano. Los beneficios de esta investigación para los participantes, están relacionados con el conocimiento sobre el estado de colonización por bacterias resistentes que implican un riesgo de infección bajo ciertas condiciones como en algunas cirugías y otros procedimientos invasivos; además del establecimiento de medidas de prevención dentro del ambiente residencial, que eviten la diseminación de dichos microorganismos.

Para los investigadores encargados de la recolección y procesamiento de muestras clínicas, existió un riesgo biológico, por la manipulación de microorganismos clasificados bajo el grupo II de riesgo moderado para el individuo y limitado para la comunidad por la Resolución 8430 de 1993. Este riesgo fue controlado a través de la aplicación del Manual de Bioseguridad de la Escuela de Microbiología, en donde se realizó el procesamiento de las muestras.

Para la unidad renal, existe un riesgo legal, debido a que el participante que se colonice o desarrolle infección, puede reclamar una mala práctica de los protocolos de limpieza y desinfección dentro de la unidad renal que haya originado su condición. Para disminuir este riesgo, se explicó a cada participante desde el inicio del estudio que la diseminación, colonización e infección por bacterias resistentes puede darse en diferentes escenarios, que incluyen la exposición en la comunidad y el contacto con hospitales y no necesariamente es debido a su presencia dentro de la unidad renal. Tanto para los empleados, como para los directivos de la unidad renal, las conclusiones de esta investigación permitirán un mejoramiento de las estrategias de prevención implementadas para evitar las infecciones causadas por bacterias resistentes, así como la evaluación futura de otras estrategias tales como la descolonización selectiva en pacientes con alto riesgo.

- **Consentimiento informado:** Para todos los participantes se aplicó un consentimiento informado que incluyó el objetivo, los procedimientos, los riesgos y los beneficios de la investigación (Anexo 1). Los investigadores responsables del estudio, explicaron la información consignada en este documento y



dieron respuesta a cualquier inquietud que se pudiera manifestar. Una vez el participante manifestó su intención de participar voluntariamente en el estudio, se procedió a la firma de este requisito y se le entregó una copia física del mismo. Cada individuo tuvo la opción de retirarse en cualquier momento del estudio sin que esto le representara dificultad alguna con el grupo de investigadores. En este formato se preguntó además a cada participante sobre su autorización para la utilización de las muestras en investigaciones futuras y si aceptaba la revisión de los registros clínicos que fueran necesarios.

- **Custodia y manipulación de la información:** La información recolectada se conservó confidencialmente hasta donde lo permiten las leyes colombianas y las normas de Buenas Prácticas Clínicas y solo fue utilizada para propósitos de esta investigación. Las historias y registros clínicos fueron manejados según el marco regulatorio nacional (Ley 23 de 1981, Resolución 13437 de 1991, Resolución 1995 de 1999 y ley 1751 de 2015) como un documento privado, con previa autorización del paciente en el consentimiento informado y bajo los principios de anonimato, privacidad y confidencialidad. La información recolectada fue guardada solo por el equipo investigador en una base de datos en un computador de la Escuela de Microbiología, con claves para su acceso.

- **Impacto ambiental:** En la realización de este proyecto se produjeron desechos de materiales, reactivos y muestras biológicas provenientes de los procedimientos desarrollados, cuyo uso inapropiado generaría un impacto directo sobre el medio ambiente. Para mitigar este riesgo, dichos productos fueron eliminados de acuerdo con protocolos establecidos de desinfección y esterilización y el Manual de Procedimientos para la Gestión Integral de Residuos Comunes, Reciclables, Biológicos y Químicos de la Escuela de Microbiología, en donde se realizó el procesamiento de las muestras.

## 7. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la investigación serán presentados en cuatro capítulos que incluyen artículos sometidos para publicación en revistas internacionales. Cada artículo dará respuesta a cada uno de los objetivos planteados:

- **Capítulo 1:** Incluye los resultados correspondientes al objetivo 1, relacionado con la descripción de las características epidemiológicas de los pacientes en hemodiálisis, según la presencia de colonización por bacterias sensibles y resistentes a antibióticos betalactámicos en la línea basal. Además, incluye los resultados para el objetivo 5 con respecto a la caracterización de los mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos y a la determinación del grado de relación genética de los aislados colonizantes al inicio del estudio.
- **Capítulo 2:** Contiene los resultados obtenidos para el objetivo 2, en lo relacionado con la evaluación del comportamiento en el tiempo y los factores asociados con la colonización por *S. aureus*. Adicionalmente, incluye los resultados para el objetivo 5 con respecto a la caracterización de los mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos y a la determinación del grado de relación genética de los aislados colonizantes para las tamizaciones al mes dos y mes seis después del inicio del estudio. Así mismo, incluye la comparación molecular de los aislados colonizantes provenientes de pacientes clasificados como portadores persistentes.
- **Capítulo 3:** Contiene los resultados obtenidos para el objetivo 2, en lo relacionado con la evaluación del comportamiento en el tiempo y los factores asociados con la colonización por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos (carbapenémicos y cefalosporinas de tercera generación). Adicionalmente, incluye los resultados para el objetivo 5 con respecto a la caracterización de los mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos y a la determinación del grado de relación genética de los aislados colonizantes para las tamizaciones al mes dos y mes seis después del inicio del estudio. Así mismo, incluye la comparación molecular de los aislados colonizantes provenientes de pacientes clasificados como portadores persistentes.

- **Capítulo 4:** Incluye los resultados obtenidos para los objetivos 3 y 4 en cuanto al análisis de la asociación entre la colonización por bacterias sensibles y resistentes a antibióticos betalactámicos y el desarrollo de bacteriemia, así como la descripción de los desenlaces clínicos: necesidad de hospitalización, estancia hospitalaria y muerte en los pacientes que desarrollaron bacteriemia. Incluye también los resultados relacionados con el objetivo 5 en cuanto a la determinación del grado de relación genética de las bacterias detectadas en los pacientes colonizados e infectados.

## **CAPÍTULO 1: Descripción de las características basales según el estado de colonización**

Este capítulo reúne los resultados correspondientes al objetivo 1, relacionado con la descripción de las características epidemiológicas de los pacientes en hemodiálisis, y los resultados para el objetivo 5 con respecto a la caracterización de los mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos y a la determinación del grado de relación genética de los aislados colonizantes al inicio del estudio.

**Artículo:** High frequency of colonization by diverse clones of beta-lactam resistant Gram-negative bacilli in hemodialysis: different sources of transmission outside the renal unit?

**Autores:** Vanegas JM, Salazar-Ospina L, Montoya-Urrego D, Builes JA, Roncancio G.A, Jiménez JN

**Revista:** Sometido Journal of Medical Microbiology

**High frequency of colonization by diverse clones of beta-lactam resistant Gram-negative bacilli in hemodialysis: different sources of transmission outside the renal unit?**

Johanna M Vanegas<sup>1</sup>, Lorena Salazar-Ospina<sup>1</sup>, Daniela Montoya-Urrego<sup>1</sup>, Julián Builes<sup>2</sup>, Gustavo Roncancio<sup>1,3</sup>, J Natalia Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Investigación en Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Nefrología. Hospital San Vicente Fundación. Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Enfermedades Infecciosas. Clínica CardioVID. Medellín, Colombia

**Corresponding author:** Judy Natalia Jiménez. Email: [jnatalia.jimenez@udea.edu.co](mailto:jnatalia.jimenez@udea.edu.co) Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Street 67, 53- 108, Block 5, office 135, Medellín, Colombia

## ABSTRACT

**Background:** While colonization by *Staphylococcus aureus* in hemodialysis patients has been assessed, knowledge about colonization by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli is still limited. We described epidemiological and molecular characteristics in hemodialysis patients colonized by *S. aureus* (MSSA-MRSA) and beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli in an ambulatory renal unit.

**Methods:** The study included patients with catheter in an outpatient hemodialysis facility in Medellín, Colombia, (October 2017-October 2018). Swab specimens were collected from nostril and skin around vascular access to assess colonization by *Staphylococcus aureus* (MSSA-MRSA). Stool samples were collected from each patient to evaluate beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli colonization. Molecular typing included pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), *spa* typing and enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR (ERIC). Clinical information was obtained from medical records and personal interview.

**Results:** A total of 210 patients were included in the study. *Staphylococcus aureus* colonization was observed in 33.8% (n=71) patients, being 4.8% (n=10) colonized by methicillin-resistant *S. aureus*. Stool samples were collected from 165 patients and of these 41.2% (n=68) and 11.5% (n=19) were colonized by extended-spectrum-beta-lactamase-producing (ESBL) and carbapenem-resistant bacilli, respectively. PFGE and ERIC revealed high genetic diversity among *S. aureus* and ESBL-producing Gram-negative bacilli (ESBL-GNB). Antibiotic use and hospitalization in the previous six months were observed in more than half of the studied population.

**Conclusions:** The high colonization by ESBL-GNB in hemodialysis patients evidences the need for stronger surveillance, not only for *S. aureus* but also for multidrug-resistant bacilli in order to avoid their spread. Additionally, the high genetic diversity suggests other sources of transmission outside renal unit instead the horizontal spread between patients.

**KEYWORDS:** Hemodialysis, colonization, multidrug-resistant bacteria, *Staphylococcus aureus*, beta-lactam resistant Gram-negative bacilli

## INTRODUCTION

The beta-lactams are the most used group of antibiotics in clinical practice due to their broad spectrum of action, bactericidal effect and low toxicity (1). However, the notable increase in infections caused by bacteria resistant to these drugs has become a global concern due to the clinical impact (2). The emergence of beta-lactam resistance mechanisms not only limits the therapeutic options for common bacterial infections, but also worsens the prognosis in patients with chronic diseases, threatening the effectiveness of important medical advances (3). Among these, patients with chronic renal failure in renal replacement therapy with hemodialysis are a group at high risk of bacterial infections by resistant microorganisms, with percentages exceeding those reported in individuals with other types of exposure to health care (4). Colonization has been described as a risk factor for the development of these infections, so it is estimated that between 17% and 35% of patients colonized by bacteria such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) may develop infections from this microorganism (5). MRSA colonization has also been associated with a high risk of graft loss in cases of kidney transplants over a period of five years (HR: 4.6, 95% CI 1.0-30.7) (6).

Although *S. aureus* is the most frequent colonizing isolate and cause of invasive infections, in recent years the emergence and rapid spread of beta-lactam resistance among Gram-negative bacilli has drawn attention to this bacterial group because it is responsible for up to 25% of infections in dialysis patients and contains mobile genetic elements that favor the transmission of resistance mechanisms, not only among bacteria of the same species but between different bacterial genera (4, 7). Thus, the presence of resistance mechanisms such as extended-spectrum betalactamases (ESBL) and carbapenemases not only increases the potential for the dissemination of these microorganisms, but also for the subsequent risk of infections with limited options for effective treatments (8). In addition, colonization is of high importance because colonized patients act as asymptomatic reservoirs for long periods, risking the transmission of resistant bacteria to other patients, health personnel and the community (8).

The objective of this study was to describe the epidemiological and molecular characteristics of colonization by *S. aureus* (MSSA-MRSA) and by beta-lactam-resistant bacilli in hemodialysis patients in a renal unit in Medellín, Colombia.

## MATERIALS AND METHODS

**Study population:** An observational cross-sectional study was conducted at an ambulatory hemodialysis center associated with a hospital in Medellín (Colombia), from October 2017 to October 2018. This center has 72 stations and provides outpatient hemodialysis to approximately 350 adult patients. Patients are divided between six wards and receive treatment three times per week in one of six shifts. Standard precautions are practiced for all healthcare workers, according to CDC recommendations (9). Any active surveillance for the detection of colonization for *S. aureus* or beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli had not been implemented before neither during this study. All patients with catheter in hemodialysis were included and written informed consent was obtained from each subject. The study protocol was approved by the Bioethics Committee for Human Research at the University of Antioquia (CBEIH-SIU) (approval no.18-35-819).

**Epidemiological data:** Information was obtained from medical records and interviews with each patient. The information included sociodemographic, clinical and dialysis characteristics such as age, hospitalization history, antimicrobial use, intensive care unit (ICU) stay, site of colonization, comorbidities, catheter type and dialysis time. Clinical data was collected simultaneously with the colonization screening.

**Colonization screening:** All patients were screened for *S. aureus* colonization in the nostrils and skin around the catheter insertion site, using sterile cotton swabs with a sterile 0.9% saline solution. Each swab was rotated two or three times in the vestibule of both anterior nares and immediately placed in an Amies transport medium with charcoal. The swabs were enriched overnight in trypticase soy broth (TSB) at 37°C and then plated on mannitol salt agar. The preliminary identification of *S. aureus* was conducted by standard laboratory methods based on colony morphology in sheep blood agar and positive catalase and coagulase tests. Colonization by betalactamase-producing Gram-negative bacilli was evaluated in a stool sample collected from each patient. One hundred milligrams of each sample was enriched in TSB overnight and streaked on Chromo ChromID® ESBL and ChromID® CARBA chromogenic media (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). The identification of isolates and determination of their antibiotic susceptibilities were carried out with the automated Vitek 2 system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) according to CLSI 2018 cutoff points (10).



**Molecular detection of mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics:** DNA was extracted from the isolates using the Wizard Genomic DNA purification kit (Promega). In *S. aureus* isolates, the presence of the species-specific *nuc* gene (specie specific), as well as the *mecA* gene (determinant of methicillin resistance) was verified by polymerase chain reaction (PCR) as previously described (11, 12). SCC*mec* types and subtypes were determined using two sets of multiplex PCR reactions (12, 13). In Gram-negative bacilli, the identification of genes coding ESBL (CTX-M) and carbapenemases (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48) was performed by multiplex PCR, according to previously reported protocols (14, 15).

**Molecular typing:** Genetic relatedness of *S. aureus* isolates was conducted using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), which was performed using the *Sma*I restriction enzyme (Thermo Scientific, United States) (16). Electrophoresis was performed on a CHEF DR III (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) at 11°C. A cluster analysis was performed using the Dice coefficient with BioNumerics software version 6.0 (Applied Maths, SintMartens-Latem, Belgium). Dendrograms were generated by the unweighted pair group method using average linkages (UPGMA), with 1% tolerance and 0.5% optimization settings. A similarity cutoff of 80% was used to define genetically related strains.

The polymorphic X region of the protein A gene (*spa*) was amplified and sequenced in a representative sample of *S. aureus* isolates and the corresponding *spa* types were assigned using the *spa* typing website (<http://www.spaserver.ridom.de/>) (17). Clonal complexes were inferred by *spa* repeat pattern analysis or by referring to the Ridom SpaServer website (18).

Genetic relatedness for *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates was evaluated using enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR (ERIC), as was previously described (19). Strains with the same profile in ERIC were evaluated by PFGE, which was performed using *Xba*I restriction enzyme (Thermo Scientific, United States). The results were analyzed by visual inspection and with the BioNumerics software version 6.0 (Applied Maths, SintMartens-Latem, Belgium), using the Dice index and UPGMA.

**Statistical analyses:** Clinical and molecular characteristics were described using absolute and relative frequencies. Continuous variables were expressed as mean and standard deviation or median and interquartile range, according to the compliance or not of the assumption of normality. Statistical analyses were carried out using STATA software, version 14.0.

## RESULTS

A total of 210 patients were enrolled in the study. The epidemiological characteristics of the patients are summarized in Table 1. The majority of patients were females (50.5%, n=106), with an age median of 62 years (IQR: 51.87-71.13). The medical histories of patients revealed frequent hospitalization history (69%, n=145) and use of antibiotics within the previous six months (59%, n=124), mainly glycopeptides (24.3%, n=51) and aminoglycosides (18.6%, n=39). Thirty-four percent of patients (n=72) did not want to change their catheter for a fistula. The most frequent comorbidities were diabetes mellitus (46.7%, n=98), followed by heart failure (23.3%, n=49) and coronary disease (19.5%, n=41). The Charlson index mean was 5.6 (SD  $\pm$  2.3).

***Staphylococcus aureus* colonization:** Of the patients enrolled in the study, 33.8% (n=71) were colonized by *S. aureus*, and of these, 4.8% were MRSA isolates (n=10). Most patients were colonized only in the nostrils (19%, n=40), followed by colonization in the nostrils and on the skin (10.9%, n=23) and only on the skin (3.81%, n=8). When comparing clinical information between colonized and non-colonized patients, several characteristics were more frequent in the former, including those receiving dialysis in the ward 3 (88.7% vs 84.9%), smokers (19.3% vs 3.0%), hematologic disease or solid organ tumor (12.7% vs 7.9%), chronic obstructive pulmonary disease (14.1% vs 6.5%), a previous stay in another renal unit (45.1% vs 36.7%) and a history of penicillin use in the last 6 months (22.5% vs 12.2%) (Table 1). Median dialysis time was lower in colonized patients (12.5 months vs 16.1 months), with a higher percentage of colonization in patients that were in their first year of dialysis (Figure 1).

**Beta-lactam-resistance Gram-negative bacilli colonization:** Of the 210 patients included, a total of 165 patients delivered stool samples, due to several of them did not agree with the sample collection and others had chronic constipation problems. Among 165 patients, 41.2% (n=68) were colonized by ESBL-producing Gram-negative bacilli (ESBL-GNB) and 11.5% (n=19) by carbapenem-resistant bacteria. The most frequent ESBL-producing bacteria was *Escherichia coli* (85.3%, n=54), followed by *Klebsiella pneumoniae* (11.8%, n=8). Six patients presented colonization by two resistant ESBL-GNB simultaneously (*E. coli* with *K. pneumoniae* n=4 and *E. coli* with *K. oxytoca* n=2). On the other hand, *Pseudomonas aeruginosa* was the most frequent carbapenem-resistant bacteria found (31.6%, n=6), followed by *Klebsiella oxytoca* (21.1%, n=4), *Klebsiella pneumoniae* (15.8%, n=3) and *Enterobacter cloacae* (10.5%, n=2). One patient was colonized by carbapenem-resistant *E. coli* and another one by

carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. Two patients presented colonization by two or more resistant carbapenem-resistant bacilli simultaneously. An isolate of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* showed simultaneous resistance to colistin. Comparison of clinical information showed a higher percentage of femoral catheter and Karnofsky index ( $\leq 70$ ) in colonized patients with ESBL-producing bacteria in comparison to non-colonized ones (8.8% vs 3.1% and 29.4% vs 20.6%, respectively) (Table 2). Likewise, the median of dialysis time was lower in colonized patients (16.8 months vs 18.3 months), with a higher colonization percentage in the first year of dialysis (Figure 1).

**Resistant mechanisms to beta-lactam antibiotics:** All MRSA isolates carried the *mecA* gene and harbored mainly SCC*mec* IVa (n=8/12), followed by IVc (n=1/12) and IVb (n=1/12) types. The SCC*mec* was not determined in two *S. aureus* isolates. On the other hand, the most frequent ESBL found in *E. coli* and *K. pneumoniae* was CTX-M group 1 (45.3% and 42.9%, respectively), which including the CTX-M-1, CTX-M-3 and CTX-M-15 variants (Figure 2). KPC carbapenemase was found in all isolates of carbapenem-resistant *K. oxytoca* and *K. pneumoniae* strains (Figure 2). Additionally, one isolate of *K. oxytoca* was positive for OXA-48 carbapenemase. The remaining carbapenem-resistant isolates were negative for the carbapenemase-encoding genes that were evaluated, including NDM, VIM and IMP.

**Molecular typing:** The PFGE and ERIC revealed high genetic diversity in the *S. aureus* and ESBL-producing bacilli isolates circulating in renal dialysis (Figure 3 and 4). In the case of ESBL-GNB, ERIC revealed 16 clusters and 35 unique patterns among 66 *E. coli* isolates (Figure 4). Moreover, PFGE for *S. aureus* showed clusters of isolates closely related or with indistinguishable genetic patterns (similarity index 80% to 100%) from patients receiving dialysis in different dialysis wards and two patients from the same ward (HD20 and HD110) had the same clone of *S. aureus* from skin samples (Figure 3). A high genetic relation was observed between isolates of nostrils and skin in each subject (Figure 3).

Spa typing was performed in all *S. aureus* strains, but clonal complex (CC) was inferred in 57 isolates (representing 60.6% isolates obtained). The most frequent clones in MSSA isolates were the CC8 (n=12; 25.5%), followed by CC188 (n=7; 14.9%) and CC45 (n=7; 14.9%), whereas in MRSA isolates the CC8 clone was the most common (n=4; 40%) (Table 3).

## DISCUSSION

In this study, a higher percentage of colonization by ESBL-producing Gram-negative bacilli (ESBL-GNB) than *S. aureus* was found in hemodialysis patients. The percentage of colonization by ESBL-GNB observed in this study is even higher than previously described in other studies that have evaluated colonization by these microorganisms in hospital environments and the community (20). Thus, the overall percentage of colonization by ESBL-GNB in the general population has been reported of 14%; however, the percentage of colonization varies depending on the geographical area and endemicity, ranging from 1.7% to 58% (20). Few studies have evaluated colonization by ESBL-GNB in hemodialysis patients. A study in Portugal reported a percentage of colonization by ESBL-producing *E. coli* of 8.3% in 121 stool samples evaluated (21), which is a much lower percentage when compared to that found in our study. On the other hand, ESBL-producing *K. pneumoniae* infections have also been reported in patients on renal replacement therapy with a percentage of 7.5%, being the dialysis a risk factor for the development of such infections (OR: 2.5, 95 % CI 1.4-4.3) (22).

The use of antibiotics has been one of the most described risk factors for colonization by ESBL-GNB (23). This characteristic was found in our study with a higher percentage in patients colonized by these microorganisms in comparison with non-colonized. Likewise, the genetic diversity observed in the colonizing isolates shows a high antibiotic pressure that favors the acquisition of bacteria with different genetic profiles, as well as the presence of different sources of transmission outside the renal unit, which has been reported in other hospital contexts, such as intensive care units (23). The use of antibiotics without a medical prescription and in environments other than human health, such as veterinary medicine, agriculture, and the food industry, has contributed to the colonization and the spread of resistant bacteria outside the hospital environment, such as the community (24). Dialysis patients circulate permanently not only in health care services but in the community, could acquire the resistant bacteria in this settings and once colonized can be reservoirs of resistant bacteria and spread these microorganisms in different environments and in renal units (25).

In countries endemic for the circulation of ESBL- and carbapenemases-producing bacilli, such as Colombia, the risk of transmission of these microorganisms between the community and the hospital environment is even greater. Colombia is one of the Latin American countries with the highest percentages of beta-lactam-resistant bacteria, mainly Gram-negative bacilli (26). In Medellín

particularly, the circulation of these microorganisms is even more alarming because the city has the highest percentages of resistance to these antibiotics compared to other cities in the country (27).

Regarding the types of ESBL found, colonization by bacteria such as ESBL-producing *E. coli* has been associated with community-acquired infections, mainly by isolates carrying CTX-M-1, as opposed to hospital isolates commonly producing CTX-M-14 or CTX-M-15 (28). The results of this study showed a high frequency of bacilli carrying CTX-M of group 1 and 9, which contain the CTX-M-1, CTX-M-15 and CTX-M-14 variants disseminated worldwide and previously reported in hemodialysis patients (21). The dissemination of ESBL producing bacteria is of great importance because these enzymes are encoded in mobile genetic elements that harbor mechanisms of resistance to beta-lactams and other groups of antibiotics such as quinolones, making the intestine a center of horizontal transfer of resistance mechanisms of a bacteria to other (29). The picture worsens when colonization by ESBL-GNB can remain for months even years, with colonization percentages greater than 35% after a year of permanent monitoring (30).

On the other hand, this study found a higher percentage of colonization by Gram-negative bacilli resistant to carbapenems compared to the percentage of colonization by MRSA. Carbapenems are the treatment of choice for infections caused by ESBL-GNB, so their exaggerated use, mainly in hospitals, has favored an increase in resistance (31). The percentage of colonization by carbapenem-resistant bacilli ranges between 0.3% and 50% in different scenarios associated with health care (31). In Latin America, a study conducted in Argentina reported a frequency of fecal colonization by ESBL- and carbapenemases-producing enterobacteria of 18.9% and 4.9% respectively, including isolates of *P. aeruginosa* producing metallo-beta-lactamases (32). Specifically in patients with chronic renal failure, a percentage of colonization by carbapenem-resistant bacteria has been reported of 13.7%, predominantly *K. pneumoniae* and KPC carbapenemase (33). These findings are similar to what was found in our study. Other carbapenemases, such as OXA-48 and NDM, have been reported in isolates of *K. pneumoniae*, causing infections in dialysis patients (34, 35).

Finally, the percentage of colonization by *S. aureus* found in this study was lower than previously reported in the country in a study conducted in hospitalized hemodialysis patients, which found a colonization percentage of 45.5% (36). Only one single colonization screening is reported in this manuscript, which could underestimate the percentage of colonization by this bacteria, as has been

evidenced in other study in which the longitudinal measurement yields colonization percentages up to 42% (37).

The percentage of colonization by MRSA is similar to that found in other studies carried out in patients on hemodialysis, with a predominance of cassette IV (37). Other studies have reported a higher percentage of MRSA colonization in hemodialysis patients with the inclusion of samples in other body sites other than the nostrils (38). In this study, it was found that 3.81% of the patients were colonized by *S. aureus* only on the skin around the catheter insertion site, which has been evidenced in other studies and highlights the need to screen the colonization status at sites other than the nostrils and thus increase the sensitivity (39). Likewise, skin colonization implies a greater risk of catheter colonization and therefore a higher risk of bacteremia (39).

Regarding the high genetic diversity of *S. aureus* isolates, this finding has been previously reported in hemodialysis patients and suggests, in a similar way to ESBL-GNB colonization, the presence of different sources of transmission outside the unit renal (39). However, in this study, some colonizing isolates were found that were genetically related to patients receiving therapy in different rooms, and even two isolates from patients in the same dialysis room had an indistinguishable electrophoretic pattern. These results indicate a horizontal transmission low of this bacteria in the renal unit, but the need for permanent surveillance of infection control and prevention strategies within the center (39). On the other hand, CC8 and CC45 represented the majority of the colonizing isolates. Previous studies have shown that community-associated CC8 clones have a greater capacity for virulence and dissemination than health-care associated ones and that circulate predominantly in hospitals and community (40). Likewise, our group reported the dissemination of CC45 clones in the pediatric population of day care centers in the city, which have been previously described in colonizing isolates (41).

As limitations of this study, colonization status was not evaluated in care personnel, in whom the percentage of colonization by bacteria such as MRSA may be higher compared to patients. Likewise, no surfaces or equipment were evaluated, which would have given a better context on the possible transmission routes of the microorganisms evaluated. The scope of this report is descriptive but not causal, because it gives a first indication of the baseline behavior of dialysis colonization but does not attempt to identify and analyze the risk factors associated with colonization by *S. aureus* and beta-lactam resistant bacilli in hemodialysis patients.

In conclusion, it is necessary to strengthen surveillance systems for the detection of bacterial colonization in patients at high risk of infection. The emergence of resistant bacteria such as ESBL-GNB and carbapenem-resistant bacteria, highlights the importance of strengthening not only prevention measures such as hand hygiene, contact precautions, environmental cleanliness and the use of exclusive medical equipment; but the need for permanent screening of patients for the detection of asymptomatic carriers, especially during the first year of dialysis in which there is a higher percentage of colonization. This is in order to prevent the spread of these bacteria in the renal unit and in the community, in addition to preventing the potential development of infections by microorganisms with increasingly limited treatment options. Although a low percentage of MRSA colonization was found, the risk of invasive infections in patients with hemodialysis catheters concerns not only resistant but also susceptible isolates.

**Acknowledgements:** To Ana Lucía Arbelaez and Luz Adriana Patiño for collection and storage of strains. To Fresenius Medical Care for approval of this study, particularly to Dr. Jorge Henao.

**Funding information:** This work was supported by Comité para el Desarrollo de la Investigación CODI, Universidad de Antioquia, project: 2017-15526 and Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e innovación Colciencias, project: 111577756947.

**Conflicts of interest:** The authors declare that there are no conflicts of interest

## REFERENCES

1. Tang SS, Apisarnthanarak A, Hsu LY. Mechanisms of  $\beta$ -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Adv Drug Deliv Rev.* 2014;78:3-13.
2. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, et al. Antibiotic resistance-the need for global solutions. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(12):1057-98.
3. Pop-Vicas A, Strom J, Stanley K, D'Agata EM. Multidrug-resistant gram-negative bacteria among patients who require chronic hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(3):752-8.
4. Snyder GM, D'Agata EM. Novel antimicrobial-resistant bacteria among patients requiring chronic hemodialysis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012;21(2):211-5.

5. Safdar N, Bradley EA. The risk of infection after nasal colonization with *Staphylococcus aureus*. *Am J Med*. 2008;121(4):310-5.
6. Moore C, Davis NF, Burke JP, Power R, Mohan P, Hickey D, et al. Colonisation with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prior to renal transplantation is associated with long-term renal allograft failure. *Transpl Int*. 2014;27(9):926-30.
7. Vasoo S, Barreto JN, Tosh PK. Emerging issues in gram-negative bacterial resistance: an update for the practicing clinician. *Mayo Clin Proc*. 2015;90(3):395-403.
8. Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med*. 2012;27(2):128-42.
9. Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR Recomm Rep* 50:1–43, 2001.
10. CLSI, 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th informational supplement. CLSI document M100-S28. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
11. Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *J Clin Microbiol*. 1992;30(7):1654-60.
12. Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, et al. Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(1):264-74.
13. Milheiriço C, Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for subtyping the staphylococcal cassette chromosome *mec* type IV in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: 'SCC*mec* IV multiplex'. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(1):42-8.
14. Dallenne C, Da Costa A, Decré D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(3):490-5.
15. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70(1):119-23.
16. Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, et al. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol*. 2001;39(10):3481-5.



17. Shopsin B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol.* 1999;37(11):3556-63.
18. Mathema B, Mediavilla J, Kreiswirth BN. Sequence analysis of the variable number tandem repeat in *Staphylococcus aureus* protein A gene: spa typing. *Methods Mol Biol.* 2008;431:285-305.
19. da Silva Dias RC, Borges-Neto AA, D'Almeida Ferraiuoli GI, de-Oliveira MP, Riley LW, Moreira BM. Prevalence of AmpC and other beta-lactamases in enterobacteria at a large urban university hospital in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;60(1):79-87.
20. Karanika S, Karantanos T, Arvanitis M, Grigoras C, Mylonakis E. Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clin Infect Dis.* 2016;63(3):310-8.
21. Correia S, Pacheco R, Radhouani H, Diniz JC, Ponce P, Jones-Dias D, et al. High prevalence of ESBL-producing *Escherichia coli* isolates among hemodialysis patients in Portugal: appearance of ST410 with the bla(CTX-M-14) gene. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;74(4):423-5.
22. Lee HL, Whang DH, Park DW, Lee YJ, Kim YH, Chin HJ, et al. Higher Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase in Patients on Renal Replacement Therapy. *J Korean Med Sci.* 2013;28(8):1187-93.
23. Detsis M, Karanika S, Mylonakis E. ICU Acquisition Rate, Risk Factors, and Clinical Significance of Digestive Tract Colonization With Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Crit Care Med.* 2017;45(4):705-14.
24. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. Centers for Disease Control and Prevention. Available in: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>.
25. Martins LR, Pina SM, Simões RL, de Matos AJ, Rodrigues P, da Costa PM. Common phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns found in a case study of multiresistant *E. coli* from cohabitant pets, humans, and household surfaces. *J Environ Health.* 2013;75(6):74-81.
26. Hernández C, Blanco V, Motoa G, Correa A, Maya JJ, de la Cadena E, et al. Evolución de la resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Biomédica.* 2014;34(Supl. 1):91-100.

27. Hernández-Gómez C, Blanco VM, Motoa G, Correa A, Vallejo M, Villegas MV, et al. Evolution of antimicrobial resistance in Gram negative bacilli from intensive care units in Colombia. *Biomedica*. 2014;34 Suppl 1:91-100.
28. Leistner R, Meyer E, Gastmeier P, Pfeifer Y, Eller C, Dem P, et al. Risk factors associated with the community-acquired colonization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive *Escherichia Coli*. an exploratory case-control study. *PLoS One*. 2013;8(9):e74323.
29. Carlet J. The gut is the epicentre of antibiotic resistance. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2012;1(1):39.
30. Bar-Yoseph H, Hussein K, Braun E, Paul M. Natural history and decolonization strategies for ESBL/carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* carriage: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(10):2729-39.
31. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(11):4943-60.
32. Villar HE, Baserni MN, Jugo MB. Faecal carriage of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* and carbapenem-resistant Gram-negative bacilli in community settings. *J Infect Dev Ctries*. 2013;7(8):630-4.
33. Rezende TFT, Doi AM, Quiles MG, Pignatari ACC, Manfredi S, Grothe C, et al. Detection of colonization by carbapenem-resistant organisms by real-time polymerase chain reaction from rectal swabs in patients with chronic renal disease. *J Hosp Infect*. 2017;96(2):123-8.
34. Ryanputra D, Wang D, Lee MB, Teo BW, Tok PL. Peritoneal Dialysis-Related Peritonitis from Carbapenemase-Producing. *Perit Dial Int*. 2019;39(1):97-8.
35. Bahramian A, Shariati A, Azimi T, Sharahi JY, Bostanghadiri N, Gachkar L, et al. First report of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-6 (NDM-6) among *Klebsiella pneumoniae* ST147 strains isolated from dialysis patients in Iran. *Infect Genet Evol*. 2019;69:142-5.
36. Hidalgo M, Carvajal LP, Rincón S, Faccini-Martínez Á, Tres Palacios AA, Mercado M, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* USA300 Latin American Variant in Patients Undergoing Hemodialysis and HIV Infected in a Hospital in Bogotá, Colombia. *PLoS One*. 2015;10(10):e0140748.
37. Maamoun HA, Soliman AR, El Sherif R. Carriage of *Staphylococcus aureus* in the nose of patients on regular dialysis treatment using hemodialysis catheters. *Hemodial Int*. 2011;15(4):563-7.

38. Patel G, Jenkins SG, Mediavilla JR, Kreiswirth BN, Radbill B, Salgado CD, et al. Clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients in an ambulatory hemodialysis center. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32(9):881-8.
39. Bogut A, Koziół-Montewka M, Baranowicz I, Jóźwiak L, Ksiazek A, Al-Doori Z, et al. Characterisation of *Staphylococcus aureus* nasal and skin carriage among patients undergoing haemodialysis treatment. *New Microbiol*. 2007;30(2):149-54.
40. Jimenez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodriguez EA, Mediavilla JR, Chen L, et al. CC8 MRSA strains harboring SCCmec type IVc are predominant in Colombian hospitals. *PLoS One*. 2012;7(6):e38576.
41. Rodríguez-Tamayo EA, Ruiz-Cadavid A, Sánchez-González LM, García-Valencia N, Jiménez-Quiceno JN. [Spread of genetically related methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* belonging to CC45, in healthy nasal carriers in Child Day Care Centers of Medellin, Colombia]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34(3):159-65.

## TABLES

**Table 1.** Epidemiological characteristics of hemodialysis patients according to colonization status by *S. aureus*

Characteristic	Total n=210	<i>S. aureus</i> colonization n=71 (33.8%) n (%)	<i>S. aureus</i> non-colonization n=139 (66.2%) n (%)
<b>Ward</b>			
1	46 (21.9)	19 (26.8)	27 (19.4)
2	48 (22.9)	15 (21.1)	33 (23.7)
3	53 (25.2)	18 (25.3)	35 (25.2)
4	47 (22.4)	17 (23.9)	30 (21.6)
B	8 (3.8)	1 (1.4)	7 (5.0)
C	8 (3.8)	1 (1.4)	7 (5.0)
<b>Male sex</b>	104 (49.5)	31 (43.7)	73 (52.5)
<b>Age Median (IQR)</b>	62.0 (51.9-71.1)	61.12 (46.2-71.4)	62.25 (53.4-70.9)
<b>Socioeconomic status</b>			
Low	181 (86.2)	63 (88.7)	118 (84.9)
Medium	20 (9.5)	4 (5.6)	16 (11.5)
High	9 (4.3)	4 (5.6)	5 (3.6)
<b>More than 5 inhabitants in the house</b>	81 (38.6)	29 (40.8)	52 (37.4)
<b>Currently smoking</b>	8 (3.8)	6 (8.4)	2 (1.4)
<b>Time in the renal unit (months) Median (IQR)</b>	4.4 (1-34.8)	3.4 (1.1-40.1)	4.5 (1.0-34.8)
<b>Dialysis time (months) Median (IQR)</b>	16.1 (2.3-50.4)	12.5 (2.3-50.2)	16.10 (2.2-5.0)
<b>Comorbidities</b>			

Coronary disease	41 (19.5)	13 (18.3)	28 (20.1)
Tumor or hematologic malignancy	20 (9.5)	9 (12.7)	11 (7.9)
Chronic obstructive pulmonary disease	19 (9.0)	10 (14.9)	9 (6.5)
Diabetes mellitus	98 (46.7)	34 (47.9)	64 (46.0)
Heart failure	49 (23.3)	20 (28.2)	29 (20.9)
Connective tissue disease	13 (6.2)	3 (4.2)	10 (7.2)
<b>Charlson index</b> Mean (SD)	5.62 (2.3)	5.66 (2.4)	5.60 (2.22)
<b>Karnofsky index</b> ( $\leq 70$ )	65 (30.9)	20 (28.2)	45 (32.37)
<b>Presence of tunneled catheter</b>	190 (90.5)	65 (91.5)	125 (89.9)
<b>Jugular catheter</b>	195 (92.9)	65 (91.5)	130 (93.5)
<b>Catheter time (months)</b> Median (IQR)	3 (0.9-13.8)	3.2 (1.0-13.0)	2.8 (0.9-14.2)
<b>Refusal of fistula use</b>	72 (34.3)	21 (29.6)	51 (36.7)
<b>Surgery in the last year</b>	49 (23.3)	18 (25.3)	31 (22.3)
<b>Previous renal transplant</b>	27 (12.9)	10 (14.1)	17 (12.2)
<b>History in the last 6 months of:</b>			
<i>S. aureus</i> infection	13 (6.2)	3 (4.2)	10 (7.2)
Stay in another renal unit	83 (39.5)	32 (45.1)	51 (36.7)
Peritoneal dialysis	15 (7.1)	7 (9.9)	8 (5.7)
Hospitalization	145 (69.0)	45 (63.4)	100 (71.9)
Intensive care unit	55 (26.2)	20 (28.2)	35 (25.2)
Home medicine	72 (34.3)	27 (38.0)	45 (32.4)
Immunosuppressive therapies	33 (15.7)	12 (16.9)	21 (15.1)
Invasive medical devices	37 (17.0)	11 (15.5)	26 (18.7)
<b>Stay in nursing home, temporary shelter or convent</b>	13 (6.2)	7 (9.9)	6 (4.3)
<b>Antibiotic use (in the last 6 months)</b>	124 (59.0)	40 (56.3)	84 (60.4)
	33 (15.7)	16 (22.5)	17 (12.2)

Penicillin	36 (17.1)	12 (16.9)	24 (17.3)
First generation cephalosporins	12 (5.7)	2 (2.8)	10 (7.2)
Third generation cephalosporins	51 (24.3)	14 (19.7)	37 (26.6)
Glycopeptides	39 (18.6)	12 (16.9)	27 (19.4)
Aminoglycosides			
<b>Albumin</b> Median (IQR)	3.99 (3.5-4.2)	3.97 (3.7-4.3)	4 (3.5-4.2)
<b>Hemoglobin</b> Median (IQR)	11.2 (9.4-12.3)	10.9 (9.4-12.0)	11.3 (9.5-12.3)
<b>Intradialysis iron</b>	91 (43.3)	31 (43.7)	60 (43.2)
<b>Erythropoietin intradialysis</b>	179 (85.2)	60 (84.5)	119 (85.6)

**Table 2.** Epidemiological characteristics of hemodialysis patients according to colonization status by ESBL-producing Gram-negative bacilli

<b>Characteristic</b>	<b>ESBL-GNB colonization n=68 (41.2%) n (%)</b>	<b>ESBL-GNB non-colonization n=97 (58.8%) n (%)</b>
<b>Ward</b>		
1	20 (29.4)	18 (18.6)
2	16 (23.5)	19 (19.6)
3	16 (23.5)	25 (25.8)
4	11 (16.2)	26 (26.8)
B	1 (1.5)	6 (6.2)
C	4 (5.9)	3 (3.1)
<b>Male sex</b>	33 (48.5)	51 (52.6)
<b>Age Median (IQR)</b>	62.2 (54.4-75.5)	61.1 (50.3-69.3)
<b>Socioeconomic status</b>		
Low	59 (86.8)	85 (87.6)
Medium	8 (11.8)	7 (7.2)
High	1 (1.5)	5 (5.1)
<b>More than 5 inhabitants in the house</b>	26 (38.2)	38 (39.2)
<b>Currently smoking</b>	30 (44.1)	45 (46.4)
<b>Time in the renal unit (months) Median (IQR)</b>	13.3 (0.9-50.0)	10.5 (1.6-47.0)
<b>Dialysis time (months) Median (IQR)</b>	16.9 (2.4-59.5)	18.3 (2.6-51.2)
<b>Comorbidities</b>		
Coronary disease	14 (20.6)	16 (16.5)
Tumor or hematologic malignancy	4 (5.9)	10 (10.3)
Chronic obstructive pulmonary disease	9 (13.3)	5 (5.1)
Diabetes mellitus	27 (39.7)	42 (43.3)

Heart failure	15 (22.1)	21 (21.6)
Connective tissue disease	6 (8.8)	5 (5.1)
<b>Charlson index</b> Mean (SD)	5.53 (2.3)	5.45 (2.2)
<b>Karnofsky index</b> ( $\leq 70$ )	20 (29.4)	20 (20.6)
<b>Presence of tunneled catheter</b>	61 (89.7)	89 (91.7)
<b>Femoral catheter</b>	6 (8.8)	3 (3.1)
<b>Catheter time (months)</b> Median (IQR)	2.9 (0.7-13.0)	3.2 (1.0-16.0)
<b>Refusal of fistula</b>	23 (33.8)	36 (37.1)
<b>Surgery in the last year</b>	17 (25.0)	20 (20.6)
<b>Previous renal transplant</b>	13 (19.1)	10 (10.3)
<b>History in the last 6 months of:</b>		
Stay in another renal unit	22 (32.3)	35 (36.1)
Peritoneal dialysis	5 (7.3)	5 (5.1)
Hospitalization	47 (69.1)	60 (61.9)
Intensive care unit	18 (26.5)	23 (23.7)
Home medicine	20 (29.4)	41 (42.3)
Immunosuppressive therapies	11 (16.2)	16 (16.5)
Invasive medical devices	12 (17.6)	15 (15.5)
<b>Stay in nursing home, temporary shelter or convent</b>	5 (7.3)	4 (4.1)
<b>Antibiotic use (in the last 6 months)</b>	41 (60.3)	55 (56.7)
Penicillin	11 (16.2)	14 (14.4)
First generation cephalosporins	12 (17.6)	20 (20.6)
Third generation cephalosporins	4 (5.9)	4 (4.1)
Aminoglycosides	16 (23.5)	20 (20.6)
<b>Albumin</b> Median (IQR)	3.9 (3.4-4.2)	4.0 (3.7-4.2)
<b>Hemoglobin</b> Median (IQR)	11. (9.4-11.9)	11.3 (10.1-12.4)
<b>Intradialysis iron</b>	30 (44-12)	42 (43-30)
<b>Tap water consumption</b>	48 (70.5)	59 (60.8)

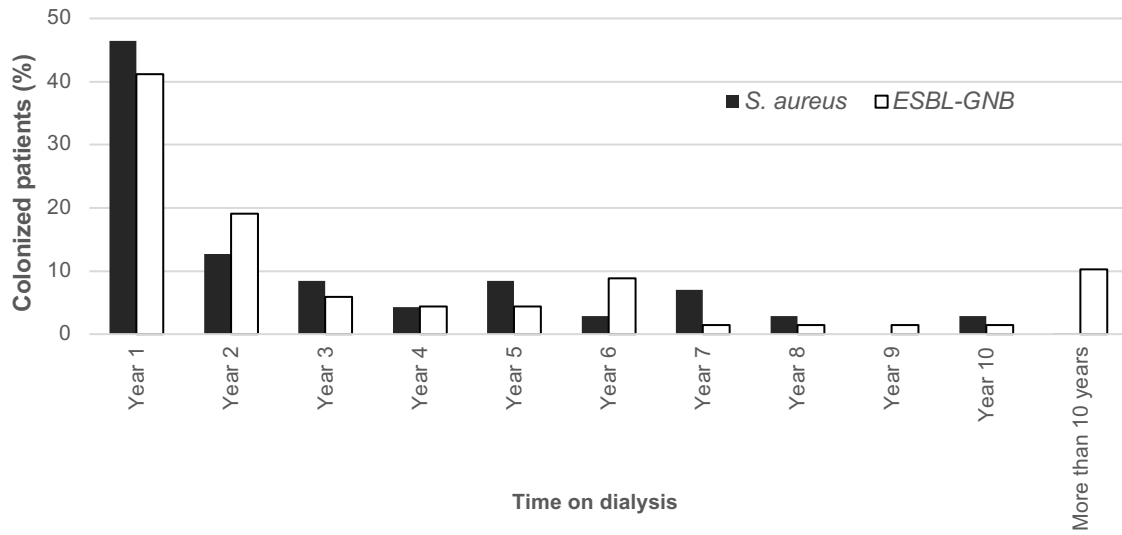


<b>Pork consumption every week</b>		
None	21 (30.9)	26 (26.8)
Once	15 (22.1)	24 (24.7)
Twice	13 (13.1)	22 (22.7)
Three or more times	19 (27.9)	25 (25.8)
<b>Chicken consumption every week</b>		
None	14 (20.6)	16 (16.5)
Once	10 (14.7)	26 (26.8)
Twice	23 (33.8)	28 (28.9)
Three or more times	21 (30.9)	27 (27.8)

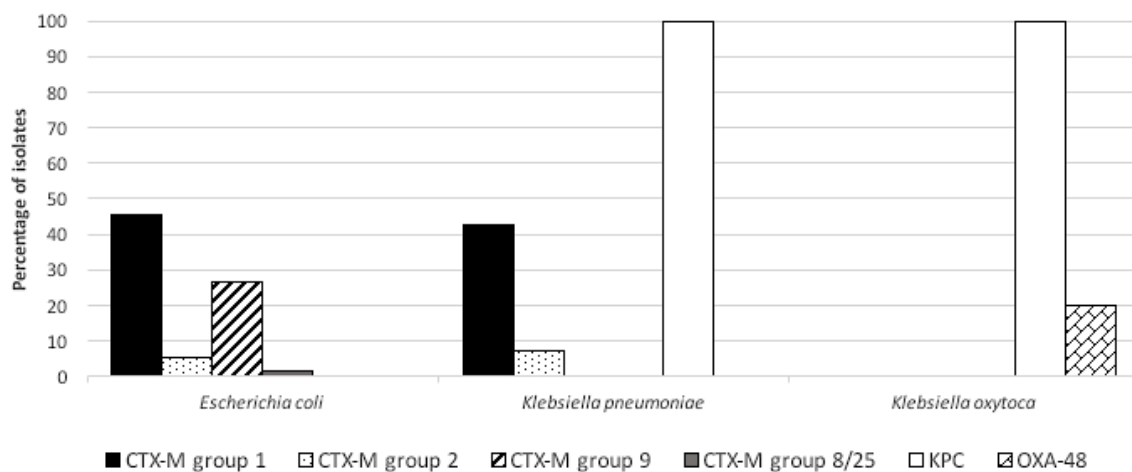
**Table 3.** Clonal complex (CC) and spa types most frequent among *S. aureus* isolates colonizing hemodialysis patients

Isolate type	Clonal complex	Spa type	No of isolates	Total n (%)
MSSA n=47	CC8	t304, t1610, t008, t1635,	6, 2, 3, 1	12 (25.5)
	CC188	t189	7	7 (14.9)
	CC45	t065, t2143	5, 2	7 (14.9)
	CC1	t922	6	6 (12.8)
	CC5	New	4	4 (8.5)
	CC30	t122, t021, t012	2, 1, 1	4 (8.5)
	CC121	t1077	2	2 (4.3)
	CC15	t228, t084	1, 1	2 (4.3)
	CC101	t056	1	1 (2.1)
	CC152	t355	1	1 (2.1)
	CC88	New	1	1 (2.1)
MRSA n=10	CC8	t1610, t304	2, 2	4 (40)
	CC88	New	2	2 (20)
	CC5	New	2	2 (20)
	CC45	t065	2	2 (20)

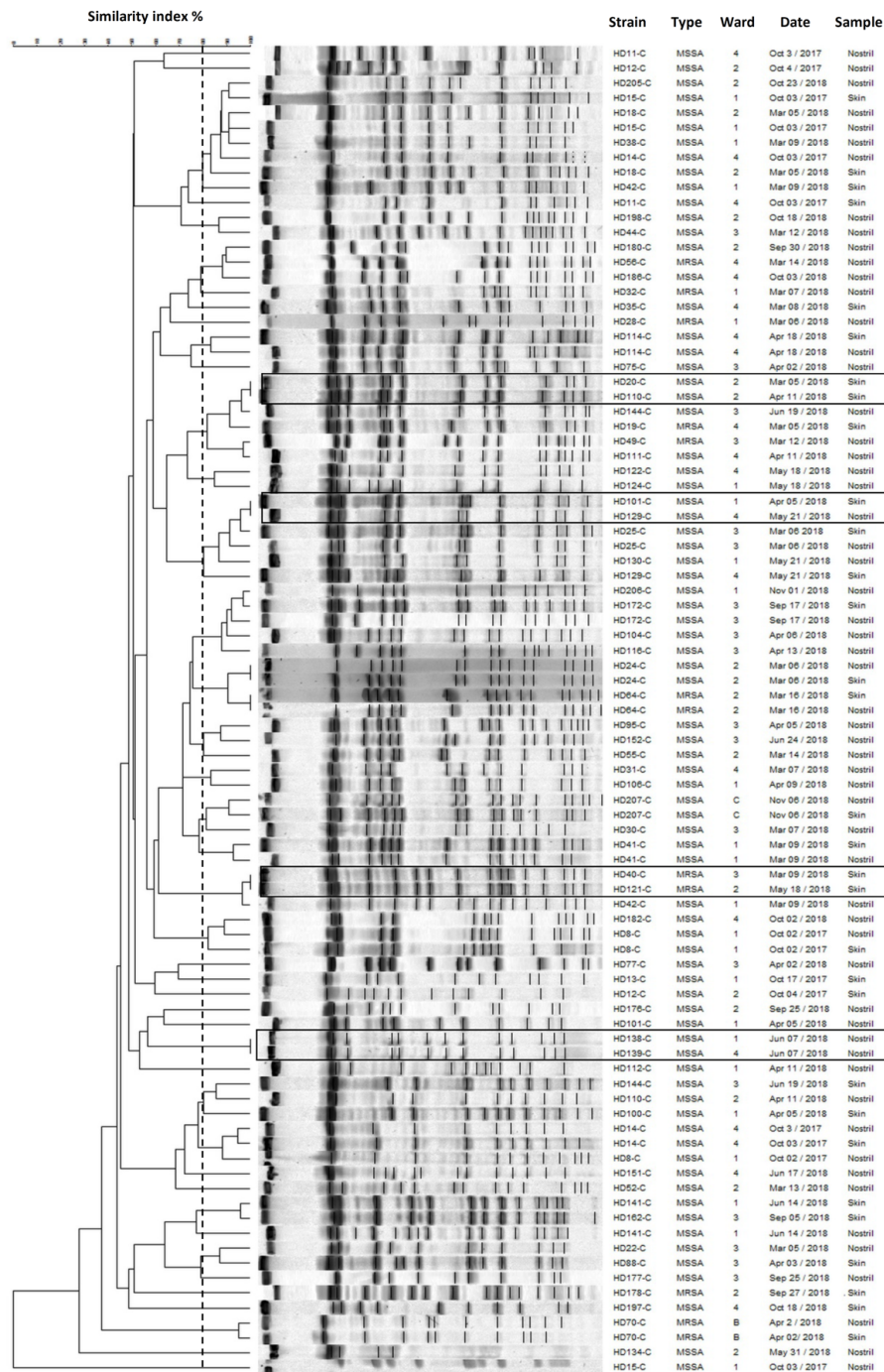
## FIGURES



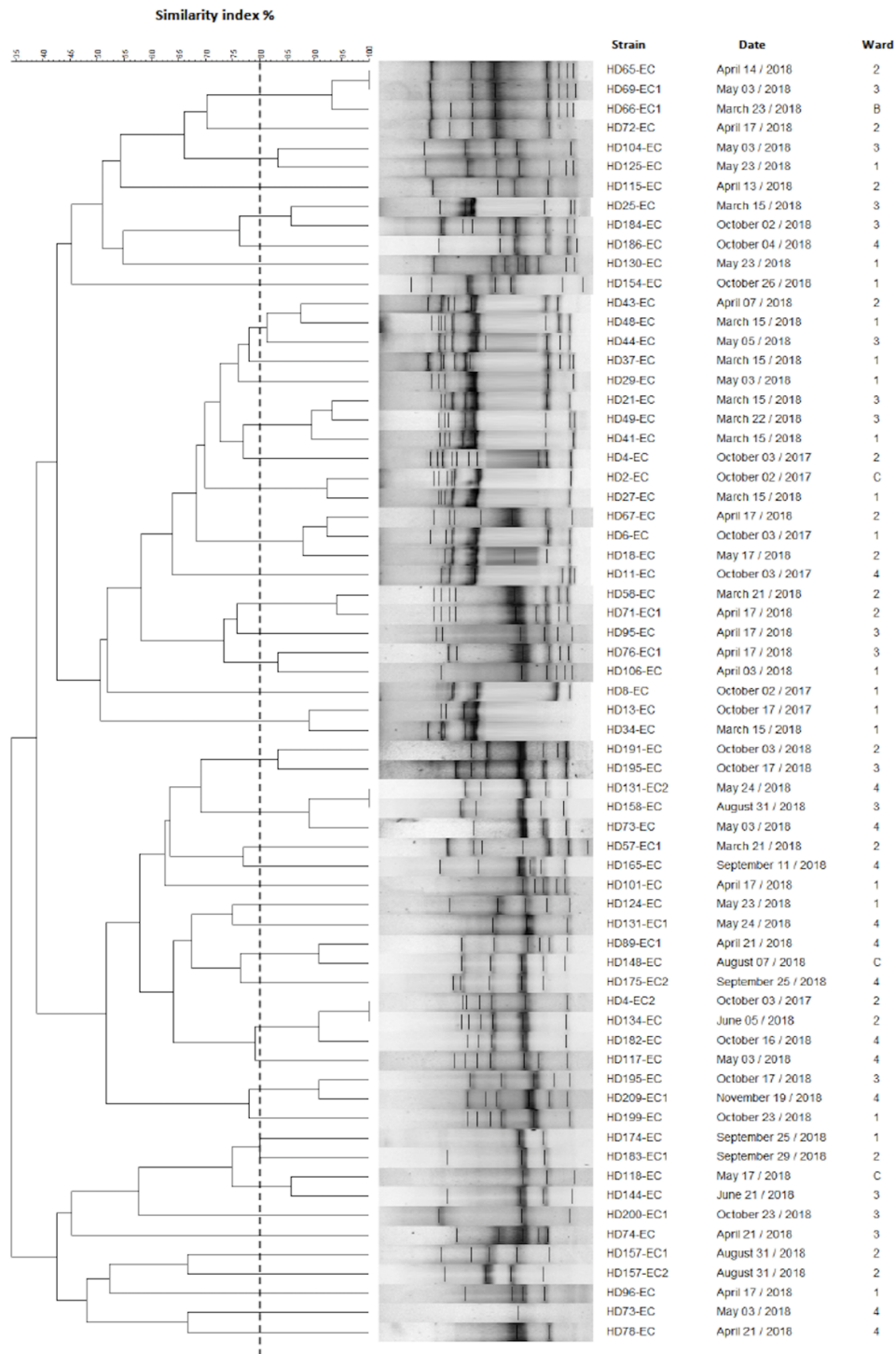
**Figure 1.** Colonization by *S. aureus* and ESBL-producing Gram-negative bacilli according to hemodialysis time (years)



**Figure 2.** Resistance mechanisms to beta-lactam antibiotics in Gram-negative bacilli isolated from hemodialysis patients. CTX-M group 1 includes CTX-M-1, CTX-M-3 and CTX-M-15; CTX-M group 2 includes CTX-M-2 and CTX-M group 9 includes CTX-M-9 and CTX-M-14; CTX-M group 8/25 includes CTX-M-8, CTX-M25, CTX-M-26, CTX-M-39 and CTX-M-41



**Figure 3.** Genetic relatedness of *S. aureus* isolates colonizing hemodialysis patients. The broken line corresponds to the cutoff level (80%) used to define PFGE clones as related. Rectangles highlight isolates with indistinguishable genetic patterns (similarity index 100%)



**Figure 4.** Genetic relatedness using ERIC of ESBL-producing *E. coli* isolates colonizing hemodialysis patients

## **CAPÍTULO 2: Comportamiento y factores asociados con la colonización por *S. aureus***

Este capítulo incluye los resultados obtenidos para el objetivo 2, en lo relacionado con la evaluación del comportamiento en el tiempo y los factores asociados con la colonización por *S. aureus*. Adicionalmente, incluye los resultados para el objetivo 5 con respecto a la caracterización de los mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos y a la determinación del grado de relación genética de los aislados colonizantes para las tamizaciones al mes dos y mes seis después del inicio del estudio. Así mismo, incluye la comparación molecular de los aislados colonizantes provenientes de pacientes clasificados como portadores persistentes.

**Artículo:** Follow-up of patients on hemodialysis shows intermittent colonization by *Staphylococcus aureus* with a high genetic diversity: the need for permanent surveillance

**Autores:** Johanna M Vanegas, Lorena Salazar-Ospina, Marlon Gallego, J Natalia Jiménez

**Revista:** Sometido International Journal of Medical Microbiology

**Follow-up of patients on hemodialysis shows intermittent colonization by *Staphylococcus aureus* with a high genetic diversity: the need for permanent surveillance**

Johanna M Vanegas<sup>1</sup>, Lorena Salazar-Ospina<sup>1</sup>, Marlon Gallego<sup>1</sup>, J Natalia Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Investigación en Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

**Corresponding author:** Judy Natalia Jiménez. Email: [jnatalia.jimenez@udea.edu.co](mailto:jnatalia.jimenez@udea.edu.co) Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Street 67, 53- 108, Block 5, office 135, Medellín, Colombia.



## ABSTRACT

**Introduction:** Colonization by *Staphylococcus aureus* increases the possibility of transmission and risk of invasive infections such as bacteremia in patients on hemodialysis. We analyzed the dynamics and factors associated with *S. aureus* colonization in a dialysis center.

**Methods:** A descriptive study with longitudinal analysis was conducted at an outpatient dialysis center in Medellín (Colombia). *S. aureus* colonization was evaluated in the nostrils and on the skin surrounding the catheter. Colonization status was assessed three times and was classified according to phenotypic methods as absent, intermittent or persistent. The molecular analysis included SCC*mec* characterization, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), spa typing, and multilocus sequence typing (MLST). A model of generalized estimating equations was performed to determine the factors associated with colonization.

**Results:** A total of 210 patients were included. Colonization by methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) isolates was 29.1% vs. 4.8%, 29.2% vs. 6.7% and 24.1% vs. 7.1% in the first, second and third screenings respectively. Most of the colonized patients were intermittent carriers (77.8%, n=63). PFGE and spa typing revealed a high genetic diversity among colonizing isolates. One third (33.3%) of the carriers classified as persistent had different clones during follow-up. Additionally, 26.3% of the patients had different strains from nostril and skin samples. Clonal complex 8 was frequent among MSSA (28%) and MRSA (59%) isolates. Current smoking (OR:7.22, 95%CI 2.24-23.27), Charlson index (OR:1.22, 95%CI 1.03-1.43) and previous infection by *S. aureus* (OR:2.41, 95%CI 1.09-5.30) were associated with colonization by this microorganism.

**Conclusion:** Colonization by *S. aureus* in hemodialysis patients changes over time, and the acquisition of new clones is a frequent event in this setting. The permanent surveillance of colonization status and the application of molecular methods to identify true persistent carriers are necessary.

**KEYWORDS:** *Staphylococcus aureus*, hemodialysis, colonization

## INTRODUCTION

Colonization by *Staphylococcus aureus* has been described as an important risk factor for the development of invasive infections in different groups of patients (1). Patients with chronic renal failure in replacement therapy by hemodialysis are a particularly affected group, with percentages of colonization and infection that exceed those reported in individuals with other types of healthcare exposures (1, 2). This is due to the prolonged use of catheters, the frequent administration of antibiotics, multiple hospitalizations, immune response alterations, the presence of different comorbidities, and close contact with healthcare settings (3). *Staphylococcus aureus* causes up to 70% of vascular access infections in hemodialysis patients, and the problem is made worse by the dissemination of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) isolates (1). Around 90% of patients with MRSA infections request hospitalization, and 17% die during hospital stay (2, 3).

Colonization is even more frequent than infection, and the patients can remain colonized for a long time, increasing not only the risk of infections but also the possibility of transmission of *S. aureus* isolates between the dialysis center, hospitals and the community since hemodialysis patients circulate frequently in these settings (4, 5). Colonization is an event that could change over time, so a cross-sectional approach is not sufficient to estimate the frequency and associated factors with this outcome (6). Follow-up studies with at least three screenings are necessary to establish the carrier status that does not underestimate the overall results (6). Furthermore, it is necessary to apply molecular typing methods with high discriminatory power that permit the differentiation of strains from several samples in the same patient, the identification of persistent carriers, and the evaluation of the existence of horizontal transmission of colonizing isolates between hemodialysis patients to suggest sources of transmission (6).

In this study, we analyze the dynamics and the factors associated with colonization by *S. aureus* in a group of hemodialysis patients in a renal center in Medellín (Colombia). This information will allow the establishment of measures to prevent the dissemination of this bacteria in hemodialysis patients and to decrease the risk of invasive infections such as bacteremia.

## MATERIAL AND METHODS

**Type of study:** A descriptive study with longitudinal analysis that assessed the change over time of colonization by *S. aureus* was conducted. Colonization screenings were performed at three points in time: at beginning of the study, two and six months after it. Carrier status was defined according to CDC as the presence of bacteria in a body site without signs or symptoms of disease (7). Colonization status was classified according to phenotypic methods as absent, intermittent, and persistent in patients with three screenings completed: absent if all the screenings were negative, intermittent if one or two screenings were positive and persistent if three screenings were positive. The clearance of colonization was defined as the presence of two consecutive negative cultures.

**Study population:** The study was conducted at an ambulatory dialysis center associated with a hospital in Medellín (Colombia), from October 2017 to October 2019. This center has 72 stations and provides outpatient hemodialysis to approximately 350 adults. Patients are divided into six wards and receive treatment three times per week in one of six shifts. Standard precautions are followed by all healthcare workers, according to CDC recommendations (8). Active surveillance for the detection of colonization for *S. aureus* was not implemented either before or during this study. All patients who were 18 years old or older and had central venous catheters for hemodialysis were included. Exclusion criteria were: an imminent change of dialysis center, rejection of the informed consent, an imminent change to peritoneal dialysis, mental illness, and transplantation. The study protocol was approved by the Bioethics Committee for Human Research at Universidad de Antioquia (CBEIH-SIU) (Approval no. 17-65-689), and written informed consent was obtained from each subject.

**Outcomes:** The main outcome was the change over time of the colonization by *S. aureus*, measured as a categorical variable (1=colonized, 0=non-colonized) in each one of the three screenings (baseline, and at two and six months later).

**Exposures:** The exposures evaluated included time on dialysis (less than 1 year), use of beta-lactam antibiotics in the last six months, current smoking, comorbidities (measured as Charlson index), Karnofsky index, previous hospitalization, history of *S. aureus* infection, and catheter type.

**Epidemiological data:** The epidemiological information was obtained from medical records and interviews with each patient. The information included sociodemographic, clinical and dialysis

characteristics like age, sex, previous hospitalization, antimicrobial use, intensive care unit (ICU) stay, site of colonization, comorbidities, catheter type, ward, and dialysis time. The interviews were performed and the medical records reviewed by two trained investigators using a questionnaire previously standardized in a pilot study, which was conducted immediately before starting the recruitment. The consistency of the information obtained from the questionnaires and that registered on a database was evaluated for each patient.

**Colonization screenings:** All patients were screened for *S. aureus* colonization in the nostrils and on the skin surrounding the catheter using sterile cotton swabs with a sterile 0.9% saline solution. Each swab was inserted about 1 cm and rotated three or four times along the nasal septum of both anterior nares. Regarding the catheter, the same procedure was repeated, applying slight pressure to the skin. The swabs were subsequently placed in an Amies transport medium with charcoal, enriched in trypticase soy broth (TSB) overnight at 37 °C, and then cultured on mannitol salt agar. The preliminary identification of *S. aureus* was conducted by standard laboratory methods based on colony morphology in sheep blood agar, and positive catalase and coagulase tests. A determination of antibiotic susceptibility was carried out with the automated Vitek 2 system (bioMérieux, Marcy l’Etoile, France) according to 2018 CLSI cutoff points (9).

**Molecular confirmation of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA):** DNA was extracted from the isolates using the Wizard Genomic DNA purification kit (Promega) according to the manufacturer's instructions. The presence of the *nuc* (specie-specific thermonuclease) and *mecA* (determinant of methicillin resistance) genes was verified by a polymerase chain reaction (PCR) as previously described (10, 11). Similarly, SCC*mec* types and subtypes were determined using two sets of multiplex PCR reactions according to protocols previously reported (11, 12).

**Molecular typing:** Genetic relatedness of isolates was assessed using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), which was performed using the *SmaI* restriction enzyme (Thermo Scientific, United States) (13). DNA fragment patterns were normalized using the bacteriophage lambda ladder PFGE marker (New England BioLabs, United Kingdom). Electrophoresis was performed on a CHEF DR III (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) at 11 °C. Cluster analysis was performed using the Dice coefficient with BioNumerics software version 6.0 (Applied Maths, SintMartens-Latem, Belgium). Dendrograms were generated by the unweighted pair group method using average linkages (UPGMA), with 1% tolerance

and 0.5% optimization settings. A similarity cutoff of 80% was used to define genetically related strains. Strains with a cutoff of 100% were considered indistinguishable genetically. Additionally, the polymorphic X region of the protein A gene (*spa*) was amplified and sequenced, and corresponding *spa* types were assigned using the *spa* typing website (<http://www.spaserver.ridom.de/>) (14). Clonal complexes (CC) were inferred by *spa* repeat pattern analysis in a sample of 138 (61.9%) *S. aureus* isolates representing the most frequent patterns obtained by PFGE (15).

**Statistical analyses:** Categorical variables were described as absolute and relative frequencies. Continuous variables were expressed as mean and standard deviation or median and interquartile range, according to whether the normality assumption was met or not.

To determine associated factors with colonization, a generalized estimating equations model (GEE) was performed, as colonization was measured in each subject on three occasions and can change over time. As a result, the observations are not independent, and a correlation structure should be assumed. Therefore, the odds of colonization by *S. aureus* were estimated using a GEE model for a binomial distribution, assuming an exchangeable correlation and a robust estimator of variance. Each exposure was analyzed in a different model and confusion variables previously suggested in the literature were included (16-19).

Measures of association (odds ratio - OR) were expressed with their corresponding 95% confidence intervals (95% CI) and p-value. Statistical analyses were carried out using STATA software, version 14.0.

## RESULTS

Of 393 eligible patients, 210 patients were enrolled in the study, of which 178 completed the second screening and 141 the third one (Fig 1). Regarding the population characteristics, 50.5% (n=106) were female, and the median age was 62 years (IQR: 51.9-71.1). The medical histories of patients revealed frequent hospitalization history (69%, n=145) and the use of antibiotics within the previous six months (59%, n=124). The most frequent comorbidities were diabetes mellitus (46.7%, n=98), followed by heart failure (23.3%, n=49) and coronary arterial disease (19.5%, n=41). The Charlson index mean was 5.6 (SD: 2.3). Thirty-four percent of patients (n=72) did not want to change their catheter for a fistula (Table 1).

***Staphylococcus aureus* colonization:** The percentages of colonization by methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) were 29.1% vs. 4.8% in the first screening, 29.2% vs. 6.7% in the second one and 24.1% vs. 7.1% in the third one respectively. By including the results of the three screenings, 57.4% of the patients had at least one positive result. All MRSA isolates were positive for the *mecA* gene. The SCC*mec* type IVa was the most common (40.5%, n=15), followed by IVc (24.3%, n=9), V (18.9%, n=7) and IVb (8.1%), n=3. The SCC*mec* type was not determined in three isolates. Among carriers, colonization only in the nostrils was observed in 56.3% of the samples (n=94), followed by colonization in the nostrils and on the skin (29.3%, n=49), and only on the skin (14.4%, n=24).

**Dynamics of colonization:** The incidence of colonization was 14 carriers per 100 patients after the first screening and 6 carriers per 100 patients after the second one. Of the 141 patients who completed the three screenings, 57.4% (n=81) were positive in at least one of the three screenings, and intermittent carriers (77.8%, n=63) were more common than persistent carriers (22.2%, n=18) (Fig 2). Two patients had persistent colonization by MRSA. Clearance of colonization after the first screening was infrequent and was observed in 8.5% (n=12) of patients colonized by MSSA and 0.7% (n=1) of patients colonized by MRSA.

**Molecular typing:** The colonizing population of *S. aureus* in hemodialysis patients was very heterogeneous. Hence, PFGE (S1-S3 Fig) and *spa* typing (Fig 3) revealed a high genetic diversity in the isolates obtained in each screening. The MSSA isolates were more diverse and presented 30 *spa* types, while the MRSA strains had 12 types. The predominant *spa* types among MSSA isolates included t304, t189, t008, and t922. In contrast, t1610 and t148 were common among the MRSA strains (Fig 3). On the other hand, of 38 patients with isolates from the skin and nostrils, 26.3% (n=10) had strains with different *spa* types in both samples. In relation to carriers classified as persistent, the *spa* typing showed that one third (33.3%) of patients had different clones in at least one of the screenings. Similarly, PFGE revealed the presence of non-genetically related isolates in almost 50% of the patients (Fig 4). Regarding MLST, CC8 (up to 28%) and CC188 clones (up to 15%) predominated among MRSA isolates (Fig 5). The frequency of other clones, such as CC45, CC1, CC30, and CC15, was variable in each screening. The clonal complexes found among MRSA isolates were mainly CC8 (up to 59%) and CC5 (up to 30%) (Figure 5). The two persistent MRSA carriers had different clones including CC88, CC121 and CC8.

Combined spa types and clonal complexes, CC8-t304 and CC188-t189 were the most frequent among MSSA isolates, while CC8-t1610 was the most common among MRSA isolates (Fig 3). CC5 with a new spa type was also observed with percentages of up to 30% in resistant isolates (Fig 3).

**Factors associated with colonization:** In the univariate analysis, current smoking was the only variable associated with colonization by *S. aureus* (OR: 5.87, 95% IC 1.81-19.00, p value= 0.003) (Table 2). This association was maintained in the multivariate analysis even after the adjustment for sex, age, and the Charlson index, presenting an increase in magnitude of effect (OR: 7.22, 95%IC: 2.24-23.27). Thus, the risk of colonization by *S. aureus* is up to six times higher in current smokers in comparison with non-smokers. Charlson index and previous infection by *S. aureus* were associated with colonization by this bacterium in the multivariate analysis after adjusting by confusion variables (OR: 1.22, 95%IC: 1.03-1.43 and OR: 2.41, 95 IC: 1.09-5.30; respectively) (Table 2).

## DISCUSSION

In this study, the colonization by *S. aureus* was an event changing over time, and diverse clones were found even among carriers classified as persistent. *Staphylococcus aureus* continues to be a microorganism that colonizes and causes infection with high frequency in hemodialysis patients (20). The percentage of colonization found in this study is similar to other reports with frequencies around 27% with a single observation (6, 16). However, to include the results of the three screenings, 57.4% of the patients had at least one positive result. This agrees with results from other longitudinal studies that have reported that between 49% and 62% of hemodialysis patients have at least one positive culture for *S. aureus* when follow-up is performed (1, 5). Thus, these results show that it is necessary to permanently monitor the state of colonization in order to detect all cases, as the most of patients are intermittent carriers and, as is evidenced in this study, clearance of colonization is not frequent (4-6).

These findings have several implications because a higher number of screenings permit the detection of more carriers and therefore identifies all patients at greatest risk of developing infections such as bacteremia (1). A previous study showed the carriers who failed to eradicate *S. aureus* were more likely to have bacteremia compared with those who were successfully decolonized with mupirocin and chlorhexidine (5). This suggests the use of prophylactic therapies in colonized patients with a greater risk

of invasive infections to decrease adverse outcomes such as hospitalizations, complications, and death should be considered (5).

In relation to MRSA colonization, a meta-analysis revealed that the frequency of MRSA carriers in hemodialysis patients is 7.2%, which is a higher percentage than the one found in patients on peritoneal dialysis 1.3% (17). The percentage of colonization by MRSA found in this study is similar to that previously reported but notably increased over time, being 4.8% in the first screening, 6.7% in the second one, and 7.1% in the third one. The above can be explained by antibiotic pressure that can be generated during the course of the hemodialysis therapy or the acquisition of new strains, but it contrasts with other studies that suggest that MRSA frequency remains stable over time in dialysis patients (6, 17). Although infections by MRSA have been associated with a worse prognosis, the risk of infection in patients colonized by *S. aureus* refers to both susceptible and resistant strains (20).

On the other hand, PFGE revealed the circulation of different strains among colonized patients in each screening. This finding suggests that horizontal transmission (patient-patient) of colonizing isolates is not frequent in hemodialysis patients; instead there are colonization sources outside of the renal center, as has been found in other reports (6). Additionally, in the case of resistant isolates, the high genetic diversity could also suggest excessive antibiotic pressure resulting in the selection of these strains (6).

Further, results obtained from PFGE and spa typing showed the presence of different clones in samples from the skin and nostrils in the same patient, as well as the acquisition of new strains even in carriers classified as persistent by phenotypic methods. This evidences that the acquisition or recolonization by new clones of *S. aureus* occurs frequently in hemodialysis patients, as has been reported not only in this group of patients but also in healthy people (6, 21, 22). It is important to consider that hemodialysis patients circulate permanently not only in hospitals and renal centers but also in the community, and in these places they can acquire strains through contact with other patients, health workers, households or fomites (1, 23). Moreover, the utilization of phenotypic methods to classify colonization status is not sufficient; it is necessary to apply molecular methods to detect true persistent carriers.

Regarding MLST, four clones were commonly found among MSSA and MRSA isolates (CC8, CC5, CC30 and CC45), which correspond to the major globally disseminated clones of *S. aureus* (24, 25). Predominant clones in the United States include CC30, CC8, and CC45, while in Europe CC5, CC8 and CC22 are common, and CC5, CC30, and CC8 clones are common in Latin America (24, 25). MSSA



population is more heterogeneous than MRSA, as the introduction of SCCmec occurs in MSSA lineages that are permissive and can maintain it (25). For this reason, molecular epidemiology data is mainly focused on MRSA and is limited for MSSA (25). In this study particularly, the CC8 clone harboring SCCmec IV was the most frequent among MRSA isolates. This clone, which frequently includes community-associated strains, is becoming predominant in Colombian hospitals, displacing previously reported healthcare-associated CC5 clones. Community-associated strains have overlapped healthcare-associated clones and cause endemic hospital infections all over the world (26, 27). Additionally, community-associated strains cause about 25% of the infections in hemodialysis patients and are the main cause of infection in the skin and soft tissues, a frequent infection in this group of patients (28, 29).

In relation to risk factors associated with colonization, in this study Charlson index and previous infection by *S. aureus* were associated with colonization by this bacteria as has been suggested by studies conducted in this and other types of patients (4, 17, 18). Interestingly, current smoking had a higher effect on this outcome. This association is not new and has been observed in some studies (30-33). Similarly, a recent study showed that smoking increases the average nasal load of *S. aureus* ( $2.6 \times 10^4$  CFU/swab) in smoking patients compared to the load observed in healthy non-smoking individuals ( $1.7 \times 10^3$  CFU / swab) (34). This situation leads to the need to include additional characteristics to those associated with healthcare to allow the identification of colonized patients. This is due to other characteristics, such as habits and behaviors of the patient. The conditions of the residential environment should also be evaluated, as this could explain why some studies have evidenced the absence of healthcare factors associated with colonization by *S. aureus* in hemodialysis patients (1, 23). In this way, a study conducted in a renal study found that 6.8% of the household cohabitants were colonized with MRSA isolates genetically related to those found in hemodialysis patients, suggesting transmission of this bacteria in the residential environment (35).

Regarding limitations, this study was performed in a single facility; therefore, it may not be representative of epidemiology in other dialysis centers. However, the facility where the research was carried out is one of the biggest in the city and attends a heterogeneous population from different places. Secondly, healthcare workers, dialysis machines, and the environment were not evaluated, which may suggest unrecognized sources for *S. aureus* transmission within the renal center. However, this study has several strengths, such as the longitudinal evaluation of colonization status, the screening of the skin to increase

sensitivity of detection, the application of molecular typing methods and the identification of risk factors associated with colonization.

In conclusion, colonization by *S. aureus* in hemodialysis patients changes over time, and the acquisition of new strains is a frequent event. Permanent surveillance of colonization status and the application of molecular methods are necessary to increase the sensitivity of detection of colonized patients and identify true persistent carriers. On the other hand, the presence of habits that increase the risk of colonization leads to the need to consider other factors not associated with healthcare for the identification of colonized patients. This will allow the establishment of prevention measures that avoid the transmission and development of infections not only in the dialysis center but also in the residential environment.

**Acknowledgements:** To Ana Lucía Arbelaez and Luz Adriana Patiño for collection and storage of strains. To Fresenius Medical Care for approval of this study, particularly to Dr. Jorge Henao.

**Funding Information:** This research was supported by Comité para el Desarrollo de la Investigación – CODI- Universidad de Antioquia, Project: 2017-15526 and Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e innovación – Colciencias- Project: 111577756947

## REFERENCES

1. Maamoun HA, Soliman AR, El Sherif R. Carriage of *Staphylococcus aureus* in the nose of patients on regular dialysis treatment using hemodialysis catheters. *Hemodial Int.* 2011;15(4):563-7.
2. Rao A, Kallen A, Horan T, Patel P: Microbiologic characteristics of dialysis and bloodstream infections: National Healthcare Safety Network, 2007–2009. 48th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. Canada: Vancouver, 2010. Abstract 393.
3. Centers for Disease Control and Prevention: Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among dialysis patients-United States, 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rpt* 56:197–199, 2007.
4. Patel G, Jenkins SG, Mediavilla JR, Kreiswirth BN, Radbill B, Salgado CD, et al. Clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients in an ambulatory hemodialysis center. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011;32(9):881-8.
5. Price A, Sarween N, Gupta I, Baharani J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* screening in a cohort of haemodialysis patients: carriage, demographics and outcomes. *J Hosp Infect.* 2015;90(1):22-7.
6. Bogut A, Koziół-Montewka M, Baranowicz I, Józwiak L, Ksiazek A, Al-Doori Z, et al. Characterisation of *Staphylococcus aureus* nasal and skin carriage among patients undergoing haemodialysis treatment. *New Microbiol.* 2007;30(2):149-54.
7. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control.* 2008;36(5):309-32.
8. Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR Recomm Rep* 50:1–43, 2001.
9. CLSI. 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th informational supplement. CLSI document M100-S28. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
10. Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *J Clin Microbiol.* 1992;30(7):1654-60.

11. Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, et al. Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(1):264-74.
12. Milheiriço C, Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for subtyping the staphylococcal cassette chromosome mec type IV in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: 'SCCmec IV multiplex'. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60(1):42-8.
13. Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, et al. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol.* 2001;39(10):3481-5.
14. Shopsin B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol.* 1999;37(11):3556-63.
15. Mathema B, Mediavilla J, Kreiswirth BN. Sequence analysis of the variable number tandem repeat in *Staphylococcus aureus* protein A gene: spa typing. *Methods Mol Biol.* 2008;431:285-305.
16. Kluytmans JA, Wertheim HF. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and prevention of nosocomial infections. *Infection.* 2005;33(1):3-8.
17. Karanika S, Zervou FN, Zacharioudakis IM, Paudel S, Mylonakis E. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in dialysis patients: a meta-analysis. *J Hosp Infect.* 2015;91(3):257-63.
18. Wang CY, Wu VC, Wang WJ, Lin YF, Lin YH, Chen YM, et al. Risk factors for nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients with end-stage renal disease in Taiwan. *J Formos Med Assoc.* 2012;111(1):14-8.
19. Robicsek A, Beaumont JL, Wright MO, Thomson RB, Kaul KL, Peterson LR. Electronic prediction rules for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011;32(1):9-19.
20. Calfee DP. Multidrug-resistant organisms in dialysis patients. *Semin Dial.* 2013;26(4):447-56.
21. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis.* 2005;5(12):751-62.

22. Muthukrishnan G, Lamers RP, Ellis A, Paramanandam V, Persaud AB, Tafur S, et al. Longitudinal genetic analyses of *Staphylococcus aureus* nasal carriage dynamics in a diverse population. *BMC Infect Dis.* 2013;13:221.
23. Kang YC, Tai WC, Yu CC, Kang JH, Huang YC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage among patients receiving hemodialysis in Taiwan: prevalence rate, molecular characterization and de-colonization. *BMC Infect Dis.* 2012;12:284.
24. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31(4).
25. Monaco M, Pimentel de Araujo F, Cruciani M, Coccia EM, Pantosti A. Worldwide Epidemiology and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus*. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2017;409:21-56.
26. Jimenez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodriguez EA, Mediavilla JR, Chen L, et al. CC8 MRSA strains harboring SCCmec type IVc are predominant in Colombian hospitals. *PLoS One.* 2012;7(6):e38576.
27. Jiménez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodriguez EA, Mediavilla JR, Chen L, et al. A comparison of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* reveals no clinical and epidemiological but molecular differences. *Int J Med Microbiol.* 2013;303(2):76-83.
28. Chua K, Laurent F, Coombs G, Grayson ML, Howden BP. Antimicrobial resistance: Not community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA)! A clinician's guide to community MRSA - its evolving antimicrobial resistance and implications for therapy. *Clin Infect Dis.* 2011;52(1):99-114.
29. Snyder GM, D'Agata EM. Novel antimicrobial-resistant bacteria among patients requiring chronic hemodialysis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012;21(2):211-5.
30. Choi SW, Lee JC, Kim J, Kim JE, Baek MJ, Park SY, et al. Prevalence and Risk Factors for Positive Nasal Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage Among Orthopedic Patients in Korea. *J Clin Med.* 2019;8(5).
31. Neupane K, Rayamajhee B, Acharya J, Rijal N, Shrestha D, G C B, et al. Comparison of Nasal Colonization of Methicillin-Resistant. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2018;2018:4508757.
32. Neidhart S, Zaatreh S, Klinder A, Redanz S, Spitzmuller R, Holtfreter S, et al. Predictors of colonization with *Staphylococcus* species among patients scheduled for cardiac and orthopedic

interventions at tertiary care hospitals in north-eastern Germany-a prevalence screening study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(4):633-41.

33. Sakr A, Brégeon F, Mège JL, Rolain JM, Blin O. Nasal Colonization: An Update on Mechanisms, Epidemiology, Risk Factors, and Subsequent Infections. *Front Microbiol.* 2018;9:2419.

34. Cole AL, Schmidt-Owens M, Beavis AC, Chong CF, Tarwater PM, Schaus J, et al. Cessation from Smoking Improves Innate Host Defense and Clearance of Experimentally Inoculated Nasal *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun.* 2018;86(4).

35. Lu PL, Tsai JC, Chiu YW, Chang FY, Chen YW, Hsiao CF, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, infection and transmission in dialysis patients, healthcare workers and their family members. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(5):1659-65.

## TABLES

**Table 1.** Baseline characteristics of hemodialysis patients according to colonization status by *S. aureus*

<b>Characteristic</b>	<b>Total n=210</b>	<b><i>S. aureus</i> colonization n=71 (%)</b>	<b><i>S. aureus</i> non-colonization n=139 (%)</b>
<b>Male sex</b>	104 (49.5)	31 (43.7)	73 (52.5)
<b>Age Median (IQR)</b>	62.0 (51.9-71.1)	61.12 (46.2-71.4)	62.25 (53.4-70.9)
<b>Socioeconomic status</b>			
Low	181 (86.2)	63 (88.7)	118 (84.9)
Medium	20 (9.5)	4 (5.6)	16 (11.5)
High	9 (4.3)	4 (5.6)	5 (3.6)
<b>Currently smoking</b>	8 (3.8)	6 (8.4)	2 (1.4)
<b>Time in the renal unit (months) Median (IQR)</b>	4.4 (1-34.8)	3.4 (1.1-40.1)	4.5 (1.0-34.8)
<b>Dialysis time (months) Median (IQR)</b>	16.1 (2.3-50.4)	12.5 (2.3-50.2)	16.10 (2.2-5.0)
<b>Comorbidities</b>			
Coronary arterial disease	41 (19.5)	13 (18.3)	28 (20.1)
Tumor or hematologic malignancy	20 (9.5)	9 (12.7)	11 (7.9)
Chronic obstructive pulmonary disease	19 (9.0)	10 (14.9)	9 (6.5)
Diabetes mellitus	98 (46.7)	34 (47.9)	64 (46.0)
Heart failure	49 (23.3)	20 (28.2)	29 (20.9)
Connective tissue disease	13 (6.2)	3 (4.2)	10 (7.2)
<b>Charlson index Mean (SD)</b>	5.62 (2.3)	5.66 (2.4)	5.60 (2.22)
<b>Karnofsky index (<math>\leq 70</math>)</b>	65 (30.9)	20 (28.2)	45 (32.37)
<b>Presence of tunneled catheter</b>	190 (90.5)	65 (91.5)	125 (89.9)
<b>Jugular catheter</b>	195 (92.9)	65 (91.5)	130 (93.5)
<b>Catheter time (months) Median (IQR)</b>	3 (0.9-13.8)	3.2 (1.0-13.0)	2.8 (0.9-14.2)

<b>Refusal of fistula use</b>	72 (34.3)	21 (29.6)	51 (36.7)
<b>Surgery in the last year</b>	49 (23.3)	18 (25.3)	31 (22.3)
<b>History in the last 6 months of:</b>			
<i>S. aureus</i> infection	13 (6.2)	3 (4.2)	10 (7.2)
Stay in another renal center	83 (39.5)	32 (45.1)	51 (36.7)
Peritoneal dialysis	15 (7.1)	7 (9.9)	8 (5.7)
Hospitalization	145 (69.0)	45 (63.4)	100 (71.9)
Intensive care unit	55 (26.2)	20 (28.2)	35 (25.2)
Home medicine	72 (34.3)	27 (38.0)	45 (32.4)
Immunosuppressive therapies	33 (15.7)	12 (16.9)	21 (15.1)
Invasive medical devices	37 (17.0)	11 (15.5)	26 (18.7)
<b>Stay in nursing home, temporary shelter or convent</b>	13 (6.2)	7 (9.9)	6 (4.3)
<b>Antibiotic use (in the last 6 months)</b>	124 (59.0)	40 (56.3)	84 (60.4)
Penicillin	33 (15.7)	16 (22.5)	17 (12.2)
First generation cephalosporins	36 (17.1)	12 (16.9)	24 (17.3)
Third generation cephalosporins	12 (5.7)	2 (2.8)	10 (7.2)
Glycopeptides	51 (24.3)	14 (19.7)	37 (26.6)
Aminoglycosides	39 (18.6)	12 (16.9)	27 (19.4)
<b>Albumin Median (IQR)</b>	3.99 (3.5-4.2)	3.97 (3.7-4.3)	4 (3.5-4.2)



**Table 2.** Univariate and multivariate analysis for identification of factors associated with colonization by *S. aureus*

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	OR	95% CI	p-value	OR	95% IC	p-value
Current smoking <sup>a</sup>	5.87	1.81 19.00	0.003	7.22	2.24 23.27	0.001
Charlson index <sup>b</sup>	0.97	0.88 1.07	0.514	1.22	1.03 1.43	0.019
Karfnosky index <sup>c</sup>	1.01	0.99 1.03	0.247	0.70	0.41 1.21	0.207
Jugular catheter <sup>d</sup>	0.55	0.21 1.48	0.240	0.64	0.23 1.80	0.402
History of hospitalization <sup>e</sup>	0.99	0.70 1.40	0.956	0.98	0.61 1.56	0.919
Use of beta-lactam antibiotics <sup>f</sup>	0.82	0.57 1.18	0.288	0.81	0.55 1.17	0.264
Time on dialysis <sup>g</sup>	1.06	0.69 1.65	0.774	1.09	0.70 1.68	0.706
Previous infection by <i>S. aureus</i> <sup>h</sup>	1.89	0.87 4.12	0.109	2.41	1.09 5.30	0.029

<sup>a</sup> Adjusted by age, sex, and Charlson index

<sup>b</sup> Adjusted by age, albumin, and history of hospitalization

<sup>c</sup> Adjusted by age, sex, Charlson index, and time on dialysis

<sup>d</sup> Adjusted by time on dialysis, and previous infection by *S. aureus*

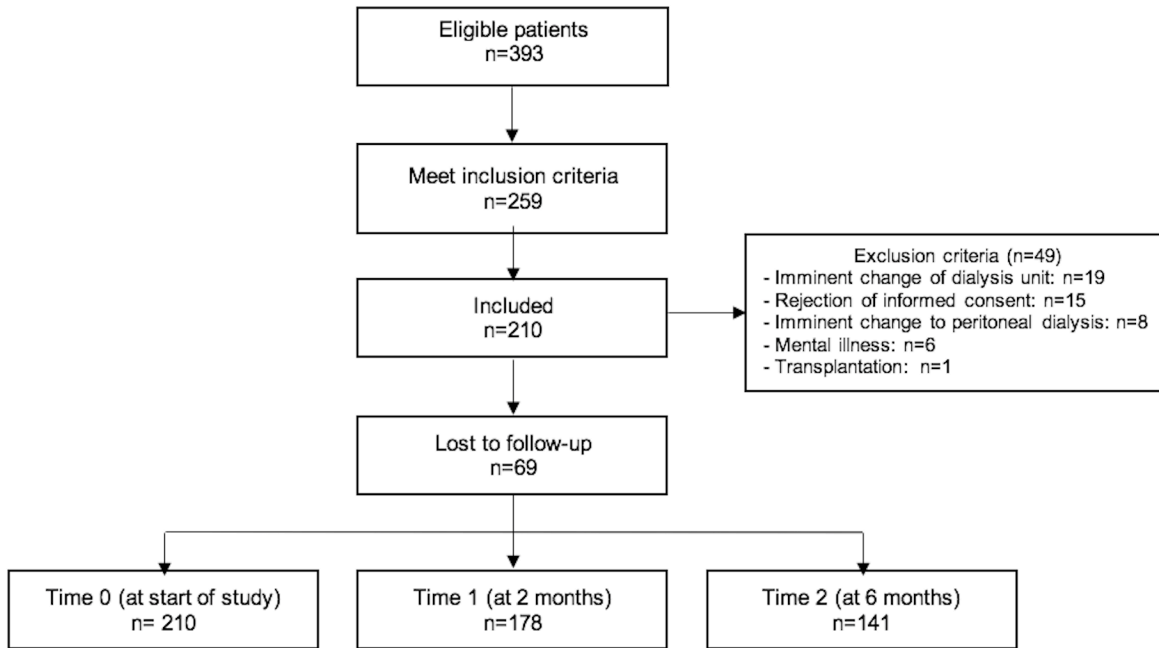
<sup>e</sup> Adjusted by age, time on dialysis, Charlson index, and albumin

<sup>f</sup> Adjusted by stay in nursing homes, Charlson index, and previous infection by *S. aureus*

<sup>g</sup> Adjusted by Charlson index, and age

<sup>h</sup> Adjusted by time on dialysis, history of hospitalization, and previous use of antibiotics

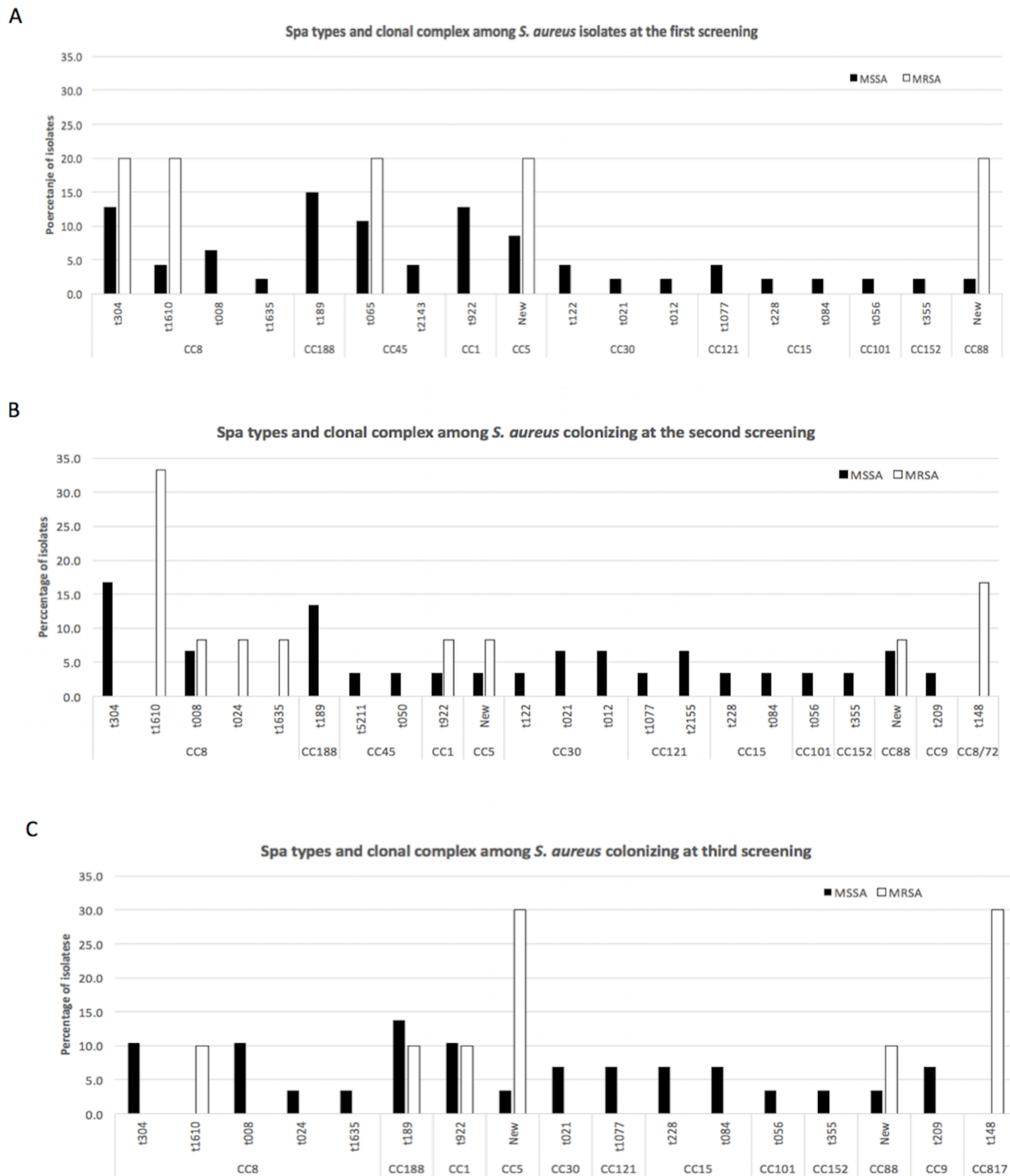
## FIGURES



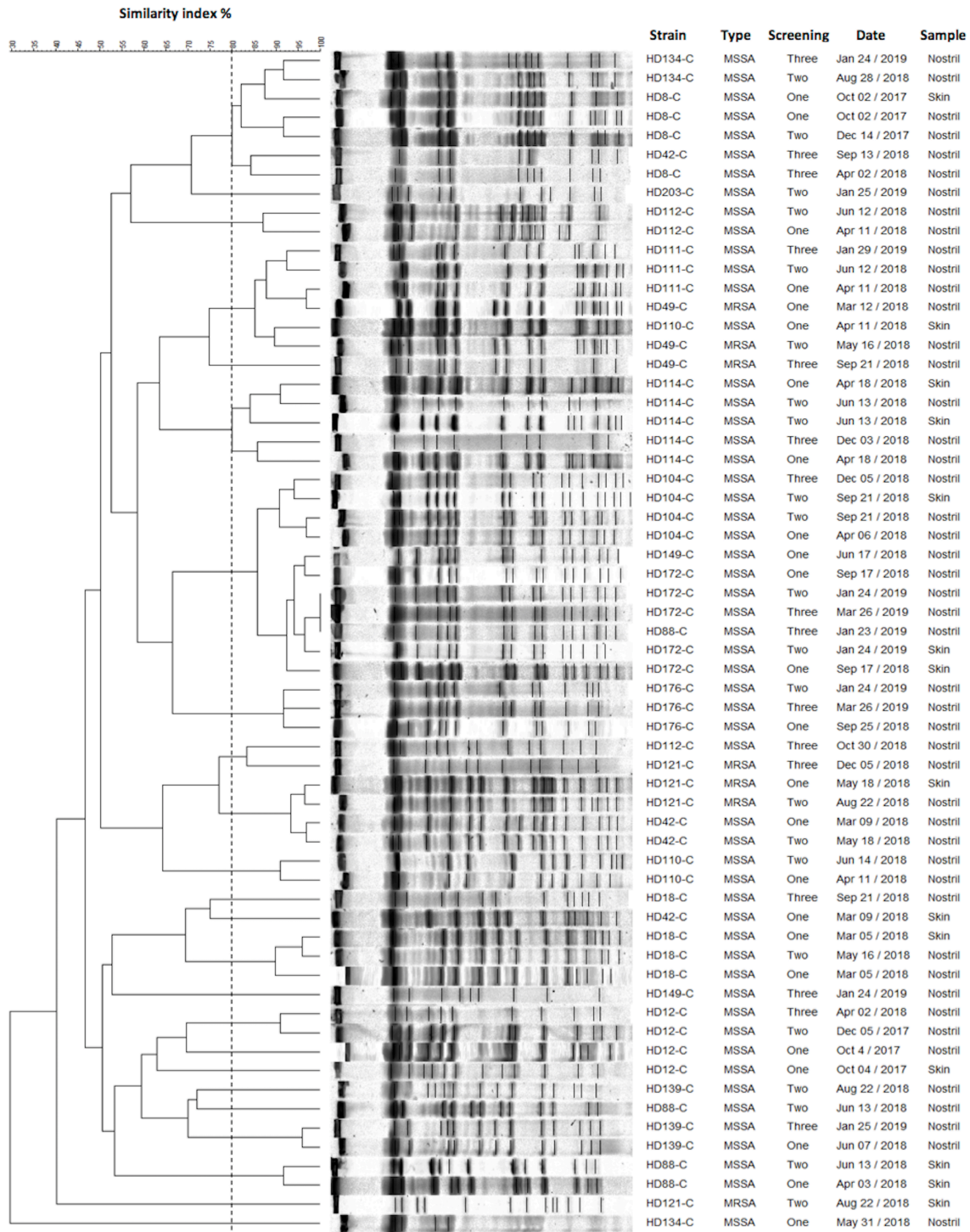
**Figure 1.** Flowchart illustrating inclusion of patients and follow-up

Isolates type	T0	T1	T2	n=141	%	Colonization type
MSSA				76	53.9	Absent
				16	11.3	Persistent
				12	8.5	Intermittent
				11	7.8	
				8	5.7	
				7	5.0	
				6	4.2	
				5	3.5	
MRSA				125	88.6	Absent
				2	1.4	Persistent
				5	3.5	Intermittent
				3	2.1	
				3	2.1	
				2	1.4	
				1	0.7	

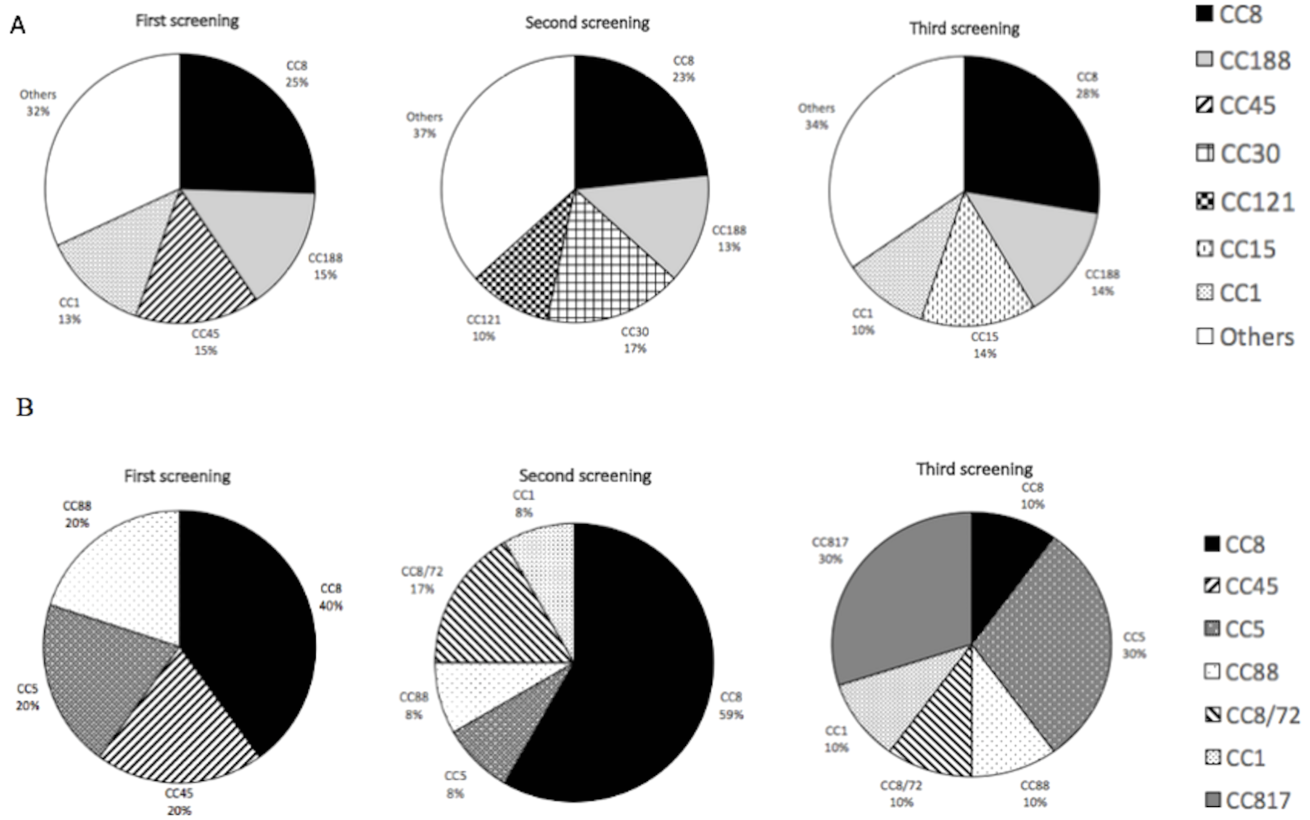
**Figure 2.** Classification of colonization by *S. aureus* in patients with three screenings performed (n=141). The highlighted squares indicate the presence of colonization



**Figure 3.** Spa types and clonal complex among MSSA and MRSA isolates colonizing hemodialysis patients. A, B and C are the first, second and third screenings respectively

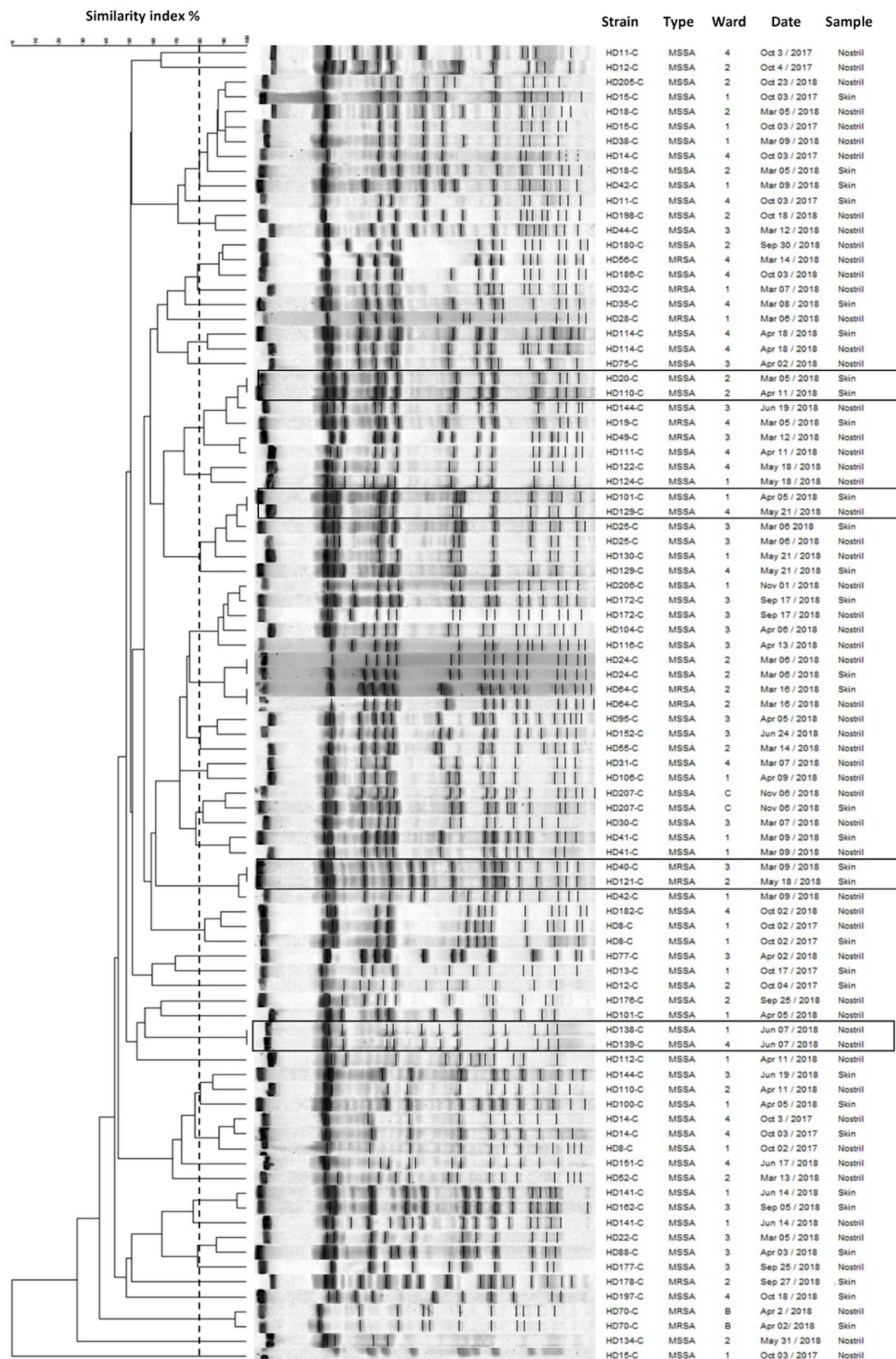


**Figure 4.** Genetic relatedness in *S. aureus* isolates colonizing persistent carriers. The broken line corresponds to the cutoff level (80%) used to define PFGE clones as related.



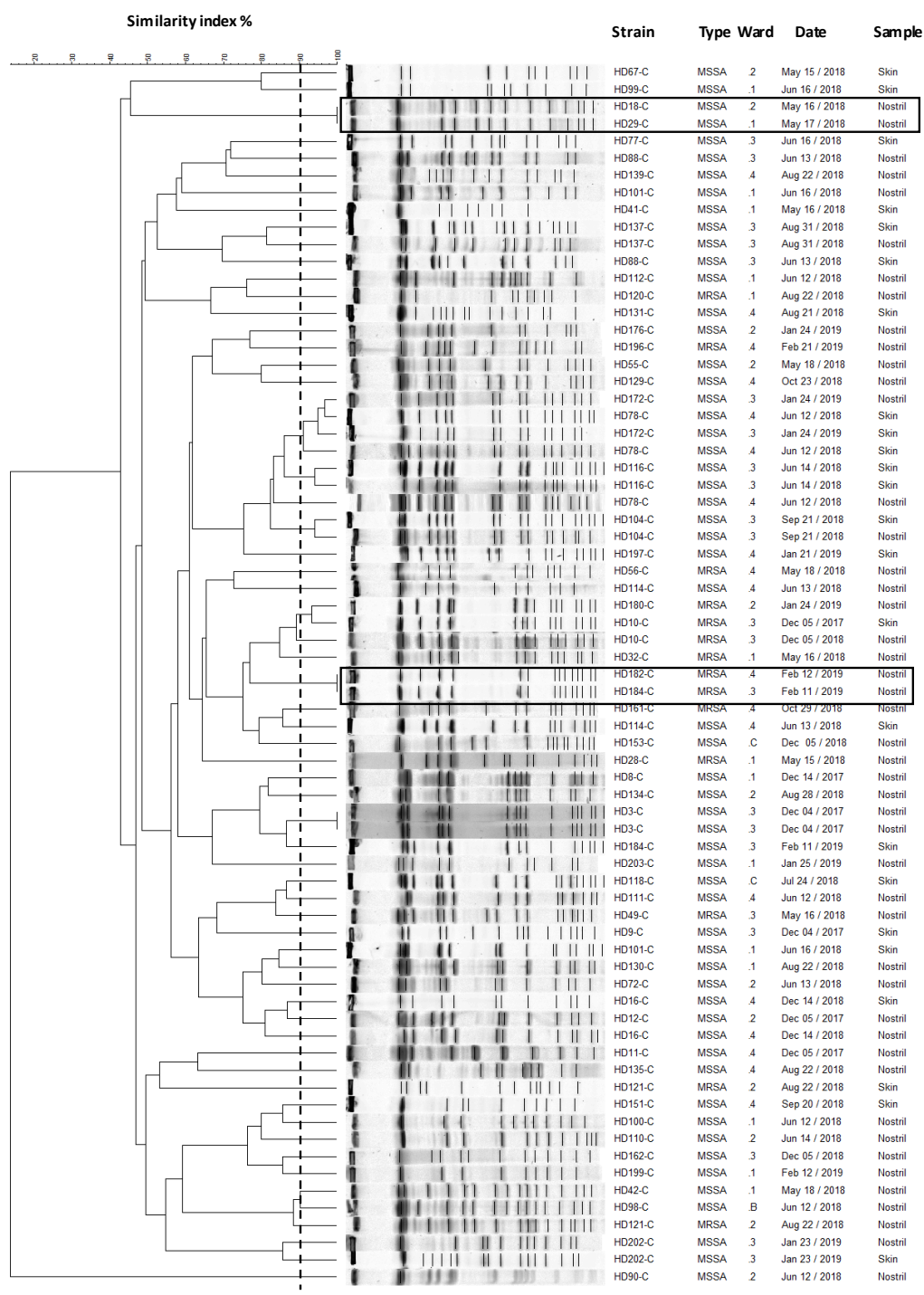
**Figure 5.** Clonal complex (CC) among MSSA and MRSA isolates colonizing hemodialysis patients. A: MSSA; B: MRSA

## SUPPORTING INFORMATION



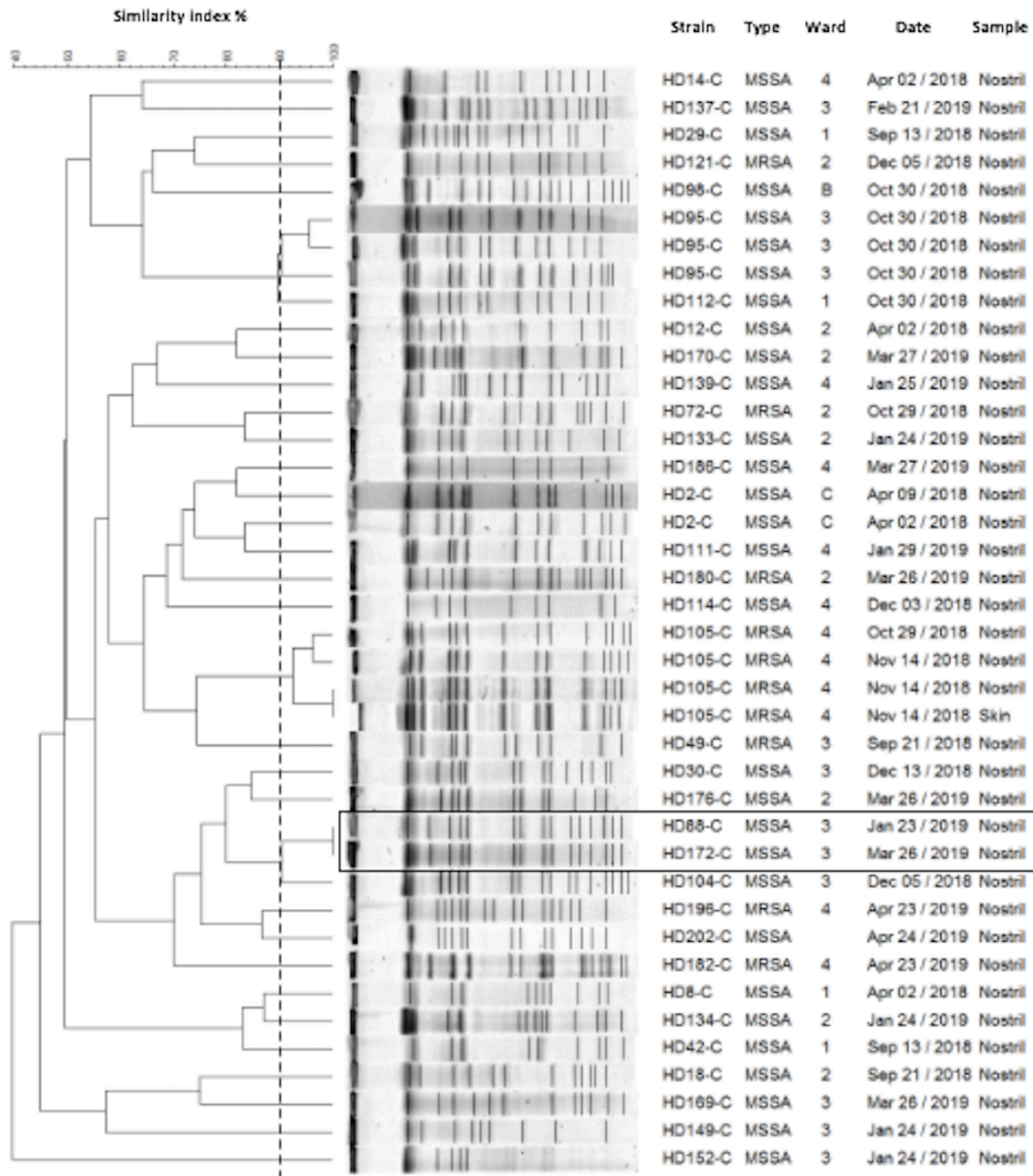
**S1 Figure:** Genetic relatedness among *S. aureus* isolates colonizing hemodialysis patients in the first screening using PFGE. The broken line corresponds to the cutoff level (80%) used to define clones as related. The box highlights genetically indistinguishable isolates from different patients





**S2 Figure:** Genetic relatedness among *S. aureus* isolates colonizing hemodialysis patients in the second screening using PFGE. The broken line corresponds to the cutoff level (80%) used to define clones as related. The box highlights genetically indistinguishable isolates from different patients





**S3 Figure:** Genetic relatedness among *S. aureus* isolates colonizing hemodialysis patients in the third screening using PFGE. The broken line corresponds to the cutoff level (80%) used to define clones as related. The box highlights genetically indistinguishable isolates from different patients

### **CAPÍTULO 3: Comportamiento y factores asociados con la colonización por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos**

Este capítulo contiene los resultados obtenidos para el objetivo 2, en lo relacionado con la evaluación del comportamiento en el tiempo y los factores asociados con la colonización por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos. Adicionalmente, incluye los resultados para el objetivo 5 con respecto a la caracterización de los mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos y a la determinación del grado de relación genética de los aislados colonizantes para las tamizaciones al mes dos y mes seis después del inicio del estudio. Así mismo, incluye la comparación molecular de los aislados colonizantes provenientes de pacientes clasificados como portadores persistentes.

**Artículo:** High intermittent colonization by diverse clones of ESBL-producing Gram-negative bacilli suggests an excessive antibiotic use and different sources of transmission in hemodialysis patients

**Autores:** Johanna M Vanegas, Lorena Salazar-Ospina, J Natalia Jiménez

**Revista:** Sometido Journal of Hospital Infection

**High intermittent colonization by diverse clones of ESBL-producing  
Gram-negative bacilli suggests an excessive antibiotic use and different sources of transmission in  
hemodialysis patients**

Lorena Salazar-Ospina<sup>1</sup>, Johanna Marcela Vanegas<sup>1</sup>, Judy Natalia Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Investigación en Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

**Corresponding author:** Judy Natalia Jiménez. Email: [jnatalia.jimenez@udea.edu.co](mailto:jnatalia.jimenez@udea.edu.co) Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Street 67, 53- 108, Block 5, office 135, Medellín, Colombia.

JMV and LS contributed equally to the work

## ABSTRACT

**Introduction:** The spread of beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli (GNB) is a topic of worldwide concern; however, knowledge about colonization by these bacteria in hemodialysis patients is limited. We analyzed the dynamics and factors associated with colonization by beta-lactam-resistant GNB in a dialysis center.

**Methods:** A longitudinal study was conducted. Stool samples were collected for each patient to evaluate extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)- and carbapenemases- producing Gram-negative bacilli. Colonization screenings were performed at three points in time and then classified as absent, intermittent or persistent. Molecular typing included enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR (ERIC), pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and multilocus sequence typing (MLST). Epidemiological information was obtained from medical records and personal interview. A Generalized Estimating Equations model was performed to determinate factors associated with the colonization.

**Results:** A total of 210 patients were included. ESBL-producing and carbapenem-resistant Gram-negative bacilli colonization reached 41.2% and 11.5%, respectively. The majority of patients were intermittent carriers with frequencies of 73.9% and 92.95% for each bacteria group. The most frequent ESBL was CTX-M-G1, while the most common carbapenemase was KPC. ERIC and PFGE revealed high genetic diversity among strains and the ST131 *E. coli* clone was frequent by MLST. Fluoroquinolone use (OR:3.13, 95%CI:1.03-9.44, p=0.043) and chronic obstructive lung disease (OR: 3.53, 95%CI:1.42-8.74, p= 0.006) were associated with ESBL-producing GNB colonization.

**Conclusion:** Our findings indicate a high intermittent colonization by diverse clones of beta-lactam-resistant GNB in hemodialysis patients. It suggests excessive antibiotic pressure that favors the acquisition of bacteria with diverse genetic profiles and different transmission sources.

**KEYWORDS:** Beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli, hemodialysis, colonization

## INTRODUCTION

Bacterial colonization has been reported as a risk factor for the development of infections in patients with chronic diseases and invasive medical devices such as hemodialysis patients (1,2). Additionally, the carrier state is more frequent than the infection and these patients may remain colonized for long periods, which favors the transmission of these bacteria between renal units, hospitals, and the community (3). This problem worsens when colonization occurs due to bacteria that are resistant to widely used antibiotics such as beta-lactams, due to their dissemination capacity and the increase in morbidity and mortality, hospital stay, and health care costs in the case of infection (4–6).

Some authors suggest that hemodialysis patients have higher colonization frequencies by resistant bacteria compared to other patient groups (4,7,8). In this way, colonization and the development of bacterial infections such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* has been extensively evaluated (4,7,8). However, the increase in recent years of beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli raises the need for direct attention with these microorganisms, not only because of the decrease in treatment options but also because of the high capacity to spread resistance mechanisms such as beta-lactamases, within which the extended spectrum (ESBL) and carbapenemases stand out (7–9). Despite the above and that the World Health Organization has considered these bacteria of critical priority (7–9), knowledge about colonization in hemodialysis patients is limited (8,10–13).

In general, it has been observed that patients on hemodialysis have a probability of colonization by multidrug-resistant bacilli of up to 20% in a 6-month follow-up period (14,15). For this reason, colonization should be considered as an event that changes over time and the screening of beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli must be performed periodically, as patients can be rapidly colonized and decolonized by these microorganisms (16). Even the suggested frequency of colonization by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli that may be greater than the frequency of colonization reported for methicillin-resistant *S. aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus spp* (3,7,14,15).

Additionally, Gram-negative bacilli can cause about 25% of bacteremia in hemodialysis patients, being approximately 9.7% resistant to third-generation cephalosporins and 3.4% resistant to carbapenems (17). Other studies have reported that isolates of ESBL-producing *K. pneumoniae* can cause up to 23.1% of the infections that occur in these patients (18).

Hemodialysis has been expressly described as an independent risk factor for infections by Gram-negative bacilli producing ESBL, these patients having a higher risk of infection by these bacteria compared to sensitive isolates (19). Beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli infections strongly impact patient mortality at 25.3%, mainly when infections are caused by resistant isolates and are polymicrobial, which can occur in 11.9% of cases (20).

Colombia is considered as an endemic country for the presence of resistance mechanisms such as ESBL and carbapenemases, with frequencies of 46% and 14% respectively; higher percentages compared to those observed in other Latin American countries such as Argentina, Brazil, or Chile. (21–23). The production of carbapenemases is even more worrying because a significant increase in this resistance has been observed in bacteria such as *K. pneumoniae*, with KPC carbapenemase being the most frequent mechanism in this microorganism in more than 68% of cases (24). The endemic presence of these mechanisms demonstrates the success of these clones and their easy dissemination, both in enterobacteria and in non-fermenting Gram-negative bacilli. Due to the above and added to the potential risk of infection in colonized patients, in this study we analyzed the dynamics and associated factors with the colonization by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli in a group of hemodialysis-dependent patients.

## METHODS

**Study type:** A longitudinal study was conducted at an ambulatory hemodialysis center associated with a hospital in Medellín (Colombia), from October 2017 to October 2019. This center has 72 stations and provides outpatient hemodialysis to approximately 350 adult patients. Patients are divided into six wards and receive treatment three times per week in one of six shifts. Standard precautions are practiced for all healthcare workers, according to CDC recommendations (25). Active surveillance for detection of colonization by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli had not been implemented before or during this study. All patients who were 18 years or older and had central venous catheter in hemodialysis were included. Exclusion criteria were an imminent change of dialysis unit, the rejection of informed consent, an imminent change to peritoneal dialysis, mental illness and transplantation. The study protocol was approved by the Bioethics Committee for Human Research at Universidad de Antioquia (CBEIH-SIU) (approval no.18-35-819) and written informed consent was obtained from each subject.

**Outcomes:** The outcome of interest was the change over time of the colonization by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli in hemodialysis patients (ESBL-producing and carbapenem-resistant Gram-negative bacilli). Colonization screenings were performed at three time points: at the beginning of the study, at two months and after six months. Colonization was defined according to CDC as the presence of bacteria in a body site without signs or symptoms of the disease (26). Colonization status was classified, according to phenotypic methods, as absent, intermittent or persistent among patients with three screenings completed: i) absent if all screenings were negative, ii) intermittent if one or two screenings were positive and iii) persistent if three screenings were positive. Clearance of colonization was defined as the presence of two consecutive negative cultures.

**Exposures:** Exposure variables included those that could be associated with the colonization by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli, as suggested by existing literature and clinical rationale (27–29). Variables evaluated were comorbidities, Karnofsky index, catheter type, hospitalization history, previous infection by multidrug-resistant Gram-negative bacilli, antimicrobial use, dialysis time and stay in nursing homes. Variables about feeding habits such as chicken, pork and water consumption were also evaluated.

**Epidemiological data:** Epidemiological information was obtained from medical records and an interview with each patient. The information included sociodemographic, clinical, and dialysis characteristics such as age, sex, previous hospitalization, antimicrobial use, intensive care unit (ICU) stay, site of colonization, comorbidities, catheter type, ward and dialysis time. Two trained microbiologists performed interviews and revised the medical records. The questionnaire was standardized previously through a pilot study, which was conducted shortly before starting the recruitment. Consistency between the information filled out in each questionnaire and the one registered in the database was evaluated for each patient.

**Colonization screening by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli:** Colonization was evaluated in a stool sample collected by each patient. A swab impregnated with each stool sample was enriched in TSB overnight and streaked on Chromo ChromID® ESBL and ChromID® CARBA chromogenic media (bioMérieux, Marcy l’Etoile, France), for the screening of ESBL and carbapenemase-producing Gram-negative bacilli, respectively. To increase sensitivity, a CDC protocol was used to detect carbapenem-resistant Gram-negative bacilli. The stool samples were enriched in TSB overnight, adding one disk of

ertapenem (10ug) and streaked on MacConkey agar (30). The identification of isolates and determination of their antibiotic susceptibilities were carried out with the automated Vitek 2 system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) using CLSI 2018 cutoff points (31). The antibiotics evaluated were amikacin (AN), ampicillin/sulbactam (SAM), cefepime (FEP), cefoxitin (FOX), ceftazidime (CAZ), ceftriaxone (CRO), ciprofloxacin (CIP), doripenem (DOR), ertapenem (ETP), gentamicin (GM), imipenem (IPM), meropenem (MEM), piperacillin/tazobactam (TZP), and tigecycline (TGC).

**Characterization of beta-lactamases:** DNA was extracted from the isolates using the Wizard Genomic DNA purification kit (Promega, United States) following manufacturer's instructions. Identification of genes coding ESBL (CTX-M belonging to five groups CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 y CTX-M-25) and carbapenemases (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48) was performed by multiplex PCR, according to previously reported protocols (32,33).

**Molecular typing:** Genetic relatedness of all strains was evaluated using enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR (ERIC), as previously described (34). Results were analyzed by visual inspection and with BioNumerics software version 6.0 (Applied Maths, SintMartens-Latem, Belgium), using Dice index and unweighted-pair group methods using average linkages (UPGMA). Strains with the same profile in ERIC were evaluated by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), which was performed using *Xba*I restriction enzyme (Thermo Scientific, United States). DNA fragment patterns were normalized using the bacteriophage lambda ladder PFGE marker (New England BioLabs, United Kingdom). Electrophoresis was performed on a CHEF DR III (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) at 11°C. Cluster analysis was performed using the Dice coefficient, and dendrograms were generated by UPGMA, with 1% tolerance and 0.5% optimization settings. A similarity cutoff of 80% was used to define genetically related strains. Multilocus sequence typing (MLST) was performed on a subset of *E. coli* isolates resistant to betalactams, representing the most frequent ERIC patterns, based in the methodology described by Wirth et al (35). Allele numbers, sequence types (ST) and clonal complex were assigned using the database maintained at website <https://pubmlst.org/> (36).

**Statistical analyses:** Categorical variables were described with absolute and relative frequencies. Continuous variables were expressed as mean and standard deviation or median and interquartile range, according to normality of the distributions. To determine the factors associated with colonization, a Generalized Estimating Equations model (GEE) was performed, due to



colonization was measured at three time points and can change over time. As result, observations are not independent and thus a correlation structure must be assumed and included in the model. Therefore, we estimated the odds of colonization by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli using a GEE model for a binomial distribution, assuming an exchangeable correlation structure and a robust estimator of variance. Association between each exposure of interest with the colonization by these bacteria was evaluated in a different model, adjusting for confusion variables according to what was found previously in the literature: sex, age, smoking, Charlson index, history of hospitalization, previous infections, antibiotics use, time on dialysis, stay in nursing homes, catheter type and socioeconomic level (27–29). Measures of association (odds ratio - OR) were expressed with their corresponding 95% confidence intervals (95%CI). Statistical analyses were carried out using STATA software, version 14.0.

## RESULTS

**Patient inclusion and clinical characteristics:** The patient inclusion process is illustrated in Figure 1. Of 393 eligible patients, 210 were included, of which 181 (n=86.2%) delivered a stool sample for colonization screening in at least one of the three observations. Fifty point three percent (n=91) of the patients were male and the age range was between 19 and 92 years, with a median of 62 years (RIC 52-71). Regarding the dialysis wards, 23.8% (n=43) of the patients received dialysis therapy in ward 1, 24.3% (n=44) in ward 2, 22.7% (n=41) in ward 3 and 21.5% (n=39) in ward 4. The other patients (7.8%; n=14) received dialysis therapy in two exclusive wards for the care of patients with KPC, hepatitis C and HIV (7.8%; n=14). The most frequent comorbidity was diabetes mellitus (44.2%; n=80), followed by dyslipidemia (37%; n=67). The median Charlson and Karnofsky index was 6 (RIC 4-7) and 80 (RIC 70-90), respectively. In the clinical history, hospitalization (66.9%; n=121), ICU stay (26%; n=47) and antibiotic use (59.1%; n=107) were highlighted; the glycopeptides (24.9%; n=45) and the aminoglycosides (19.9%; n=36) being the most used.

**Colonization by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli:** Colonization by ESBL-producing Gram-negative bacilli (ESBL-GNB) was observed in 41.2% (68/165), 38.8% (47/121), and 36.2% (34/94) of the patients, in the first, second and third screening; respectively. Of the 181 patients who gave a stool sample, 54.7% (n=99) were positive for ESBL-GNB in at least one of the three screenings; being *Escherichia coli* the most frequently found bacteria (92.9%, 92/99), followed by *Klebsiella*

*pneumoniae* (18.2%, 18/99) and *Klebsiella oxytoca* (1.0%, 1/99). Ten patients presented simultaneous colonization by two bacterial species: *Klebsiella spp* and *E. coli*. The most common ESBL was CTX-M-G1, observed in 47.9%, 32.1% and 45.4% of patients colonized by *E. coli* and in 35.3%, 75.0%, and 83.3% of patients colonized by *K. pneumoniae* in the first, second and third screening; respectively (Figure 2). CTX-M-G8 and CTX-M-G9 were found in *E. coli* isolates, but not in *K. pneumoniae* (Figure 2).

Regarding colonization by carbapenem-resistant Gram-negative bacilli (CAR-GNB), it was found that 11.5% (19/165), 5.0% (6/121), and 9.6% (9/94) of the patients were colonized by these microorganisms in each of the three screenings respectively. Of the 181 patients who gave a stool sample, 14.9% (n=27) were positive in at least one of the three observations for these microorganisms. *Pseudomonas aeruginosa* was the most frequent bacteria (59.3%, 16/27), followed by *Klebsiella pneumoniae* (18.5%, 5/27), *Klebsiella oxytoca* (18.5%, 5/27), and *E. coli* (14.8%, 4 / 27). All the *Klebsiella spp* isolates and two *E. coli* isolates harbored the KPC type carbapenemase, while the *Pseudomonas aeruginosa* isolates were negative for the carbapenemases evaluated.

The resistance percentages of the ESBL-producing isolates and the carbapenem-resistant isolates are shown in Figure 3. In general, it was observed that more than 50% of the ESBL-producing *E. coli* and *Klebsiella spp* isolates exhibited resistance to ciprofloxacin and that about 10% were resistant to cefepime. In the case of carbapenem resistant isolates, higher percentages of resistance to beta-lactam antibiotics, aminoglycosides and fluoroquinolones were found in enterobacteria compared to Gram-negative non-fermenting bacilli (Figure 3).

**Colonization dynamics:** To determine the behavior of colonization over time, the colonization status for ESBL-GNB and CAR-GNB was classified using phenotypic methods as absent, intermittent, or persistent. The general dynamics of colonization are presented in Figure 4. The classification of colonization was performed in 37.0% (n= 67) of the patients who delivered the stool sample in the three screenings. Among patients colonized by ESBL-GNB and CAR-GNB, the most frequent classification was intermittent, presented in 73.9% (n=34) and 92.9% (n=13) of the cases, respectively. Clearance of colonization occurred mainly in patients colonized by ESBL-GNB in 14.9% (n=10) of the cases.

**Molecular typing:** In order to determine the genetic relationship of isolates from colonized patients, Enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) was performed on *E. coli* and *Klebsiella spp*

isolates. The analysis showed high genetic diversity in the majority of the ESBL producing isolates, although some isolates with indistinguishable patterns from patients receiving treatment in different dialysis wards (Suppl 1-4) were observed. These results were confirmed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and it was observed that those isolated with indistinguishable patterns had a Dice coefficient greater than 80%, so they were genetically related. PFGE was also used to determine if patients classified by phenotypic methods as persistent carriers were colonized by genetically-related clones. The results showed a high genetic diversity of the isolates, so it was determined that only two out of ten (20%) patients classified with persistent colonization carried genetically related isolates during the three screenings (Figure 5). MLST was performed on the 21 *E. coli* isolates representing the most frequently observed ERIC clusters (15.4% of all isolates). The results showed that 33.3% (n=7) of the isolates belonged to ST131, followed by ST648 (19.0%; n=4). Likewise, the presence of ST1304, ST2531, ST10, ST617, ST963, ST1193, ST58, ST1294, ST457, and ST1276 (with one isolate each) was reported.

**Factors associated with colonization:** The identification of factors associated with colonization was analysed only for ESBL-GNB, due to the low number of patients colonized by CAR-GNB. Thus, the bivariate analysis showed COPD, the use in the last six months of fluoroquinolones and the consumption of chicken meat as associated factors (Table 1). These variables maintained their association with colonization by ESBL-GNB even after adjusting the multivariate analysis for the confounding variables of current smoking, sex, age, race, Charlson index, nursing home stays and socioeconomic status (Table 1). In this sense, the odds of being colonized by ESBL-GNB is three times in patients with previous use of fluoroquinolones (OR: 3.13, 95% CI 1.03-9.44,  $p = 0.043$ ) and who suffer from COPD (OR: 3.53, 95% CI 1.42-8.74,  $p = 0.006$ ), compared to patients who do not have this medical history. On the other hand, the consumption of chicken with a frequency equal to or greater than three times per week was found to be a protective factor for colonization (OR: 0.42, 95% CI: 0.21-0.85,  $p = 0.016$ ) (Table 1).

## DISCUSSION

In the present study, a high frequency of intermittent colonization by ESBL-GNB and CAR-GNB was found in patients on hemodialysis. In addition, it was observed that the colonization percentage increased to 54.7% (for ESBL-GNB) and 14.9% (for CAR-GNB) through the colonization screening at three time

points during six months. These frequencies are higher than those reported in other studies for hemodialysis patients, which have reached percentages up to 16% for colonization by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (7-37). Likewise, they exceed the frequencies of colonization by ESBL-GNB in the general population, whose percentages reach 12% (7-37).

The implications of these findings for hemodialysis patients are related to three important aspects: the potential risk of infections with endogenous origin, the spread in different environments of resistant microorganisms and the need to permanently screen the colonization status. Although studies conducted to date on patients on hemodialysis have not associated intestinal colonization by beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli with the development of infections in hemodialysis patients, some studies in other population groups have reported an association with high mortality rates (38,39). Additionally, when an infection with resistant bacteria occurs, the treatment is more difficult. This increases hospital stays and healthcare costs (38,39). Secondly, the high frequency of beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli colonization increases the risk of dissemination in different environments, so that colonized patients act as reservoirs of these microorganisms, becoming disseminating vehicles in renal units, hospital institutions and in the community in general, also facilitating the presence of these microorganisms in health personnel, medical devices and on surfaces (40). Thirdly, the intermittency of colonization and the low frequency of clearance of colonization show the importance of permanently screening for colonization by ESBL-GNB and CAR-GNB in patients on hemodialysis. This avoids underestimating cases and allows the establishment prevention strategies such as contact isolation. Additionally, clearance of colonization was observed in less than 15% of colonized patients, showing in most cases that the carrier status can be intermittent and exceed six months, as evidenced by previous studies in which found colonization by these microorganisms was found even after one year of follow-up (7-37).

On the other hand, the results obtained by ERIC and PFGE showed high genetic diversity in ESBL-GNB isolates, suggesting that colonization in these patients is the product of antibiotic pressure and the acquisition of these bacteria through different sources and not by horizontal patient-to-patient transmission within the renal unit. Thus, although *E. coli* is a microorganism native to the gastrointestinal microbiota, it is common to find it in low proportions, due to the control that the anaerobic microbiota exerts on its population (32). However, frequent use of broad-spectrum antibiotics can change the intestinal microbiota and favor the selection of resistant microorganisms (32,48). The use of antibiotics

such as vancomycin is common in this population and is included in the regimen for the treatment of bacteremia in this group of patients in the renal unit, so the presence of ESBL-producing *E. coli* may be the result of the synergistic use of this and other antibiotics that promote the selection of resistant clones in the gastrointestinal tract (32,48). Regarding the presence of different transmission sources, it is known that *E. coli* has a wide distribution in multiple environments, including animal, environmental and human reservoirs (40). Also, it can survive extreme environmental conditions and has high genomic plasticity, allowing the presence of mutations and the acquisition and exchange of mobile genetic elements and resistance genes (40). In contrast to the high genetic diversity observed in this study among isolates colonizing hemodialysis patients, some reports have found strains of ESBL-GNB on household, pet and human surfaces, with genetic patterns indistinguishable from each other. This suggests that this bacteria can also be transmitted in the community and is not restricted to the hospital environment (44).

Similarly, the results of PFGE showed a deficiency in the classification of colonization by phenotypic methods, as patients initially classified as persistent did not harbor genetically related isolates. This finding suggests that colonization by ESBL-GNB is not presented by the same clone, but, on the contrary, is the product of the permanent colonization of several clones over time. This highlights the importance of implementing molecular tests in support of phenotypic tests to identify true persistent carriers to gain adequate knowledge of the dynamics of colonization by resistant microorganisms in this and other populations.

With regard to the presence of ESBL and carbapenemases, the presence of CTX-M-G1 ESBL and KPC carbapenemase was mainly observed, which have been widely reported in Colombia (45–47). Thus, the circulation of the variants CTX-M-12, CTX-M-15, CTX-M-2, CTX-M-9 and CTX-M-1 has been reported in the country in the case of ESBL, as well as the presence of KPC-2 and KPC-3 carbapenemases (45–47). The presence of these beta-lactamases in the colonizing isolates is alarming, not only because of their relationship with mobile genetic elements such as plasmids that allow their spread from one bacterium to another, but also because they have often been associated with successful bacterial clones that simultaneously harbor this and other resistance mechanisms worldwide. The use of MLST in *E. coli* isolates in this study showed the presence of the successful clone ST131 harboring CTX-M-G1, which has been widely recognized around the world for its high spread, its simultaneous resistance to beta-lactams and fluoroquinolones and for carrying different ESBLs including those of the CTX-M

type (48,49). Clone ST131 is the cause of different types of infections in the community and in the hospital environment, such as urinary tract infections and bacteremia. In addition, it has several virulence factors that lead to the development and evolution of the disease (50,51).

Finally, the risk factor analysis performed in this study supports the conclusions obtained by molecular typing methods. First, it was found that prior hospitalization was not a factor associated with colonization by ESBL-GNB (OR = 1.43; 95% CI, 0.93 - 2.19). This coincides with the results obtained in a meta-analysis that analyzed the factors associated with colonization by these bacteria which reported a RR=1.28; 95% CI, 0.82 - 2.0 for said exposure (29). The aforementioned reaffirm the finding of the acquisition of these bacteria from different sources outside the renal unit, again discarding healthcare institutions as the sole source of dissemination of these microorganisms.

Second, the use of fluoroquinolones during the previous six months was a risk factor associated with colonization by ESBL-GNB (OR = 3.13; 95% CI, 1.03 - 9.44). In general, the previous use of antibiotics and especially fluoroquinolones has been a frequent risk factor for colonization by ESBL-GNB in different studies for other types of populations (27,52-54). Likewise, resistance to fluoroquinolones in ESBL-GNB has been described with a percentage up to 53% and has been explained not only by the presence of plasmids that can simultaneously carry ESBL and fluoroquinolone resistance mechanisms but also by the circulation of successful clones such as *E. coli* ST131, which frequently carry both resistance mechanisms (42,55,56). In this sense, this finding confirms the conclusion that the high genetic diversity of colonizing ESBL-GNB isolates can be explained by the selection pressure that broad-spectrum antibiotics exert on the microbiota of the gastrointestinal tract.

On the other hand, the association between COPD and colonization by ESBL-GNB has not been commonly described. COPD patients have frequent contact with health care. They can also receive different groups of antibiotics, which increases the risk of colonization by resistant bacteria and could explain this association (57). However, in our study, the association between COPD and colonization by ESBL-GNB was maintained even after adjusting for confounding variables such as age, current smoking, history of hospitalization and antibiotic use. While the plausibility of this association could be non-causal, it can be explained by the presence of other conditions such as nutritional status and other contact with health care (57). These were not evaluated in this study and could, together with the use of antibiotics and the history of hospitalization, increase the possibility of colonization by ESBL-GNB in patients with

this disease (57). Other factors such as stays in long-term care places such as nursing homes, trips to endemic areas and certain eating habits such as the consumption of pig, poultry or chicken, have been associated with the acquisition of beta-lactamase type ESBL (15,37, 8). In this study, chicken consumption was not found as a risk factor for colonization by ESBL-GNB. On the contrary, it was found to be a protective factor. This is consistent with other studies that report the absence of association between fowl consumption and colonization by these bacteria, in addition to the circulation of different ESBL-GNB clones in chickens and humans (58,59). However, additional studies with molecular typing methods are required to evaluate the association between poultry consumption and colonization by these microorganisms to confirm clonal dissemination between animals and humans.

In conclusion, the dissemination of beta-lactam-resistant Gram-negative bacilli such as ESBL-GNB and CAR-GNB in hemodialysis patients is an emerging problem of concern. Colonization surveillance should be carried out permanently to detect all cases. Diverse genetic backgrounds among strains suggest excessive antibiotic pressure resulting in the selection of resistant strains and different transmission resources. The requirement of stewardship programs in renal units is mandatory, as well as the implementation of educational strategies about antibiotic use in the community for patients.

**Acknowledgements:** To Ana Lucía Arbelaez and Luz Adriana Patiño for collection and storage of strains. To Fresenius Medical Care for approval of this study, particularly to Dr. Jorge Henao.

**Funding Information:** This research was supported by Comité para el Desarrollo de la Investigación – CODI- Universidad de Antioquia, Project: 2017-15526 and Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e innovación – Colciencias- Project: 111577756947

## REFERENCES

1. Kontopoulou K, Iosifidis E, Antoniadou E, Tasioudis P, Petinaki E, Malli E, et al. The clinical significance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* rectal colonization in critically ill patients: From colonization to bloodstream infection. *J Med Microbiol.* 2019;68(3):326–35.

2. Massa E, Michailidou E, Agapakis D, Papadopoulos S, Tholioti T, Aleuroudis I, et al. Colonization and Infection With Extensively Drug Resistant Gram-Negative Bacteria in Liver Transplant Recipients. *Transplant Proc.* 2019;51(2):454–6.
3. Eleftheriadis T, Liakopoulos V, Leivaditis K, Antoniadis G, Stefanidis I. Infections in hemodialysis: A concise review - part 1: Bacteremia and respiratory infections. *Hippokratia.* 2011;15(1):12–7.
4. Calfee DP. Multidrug-resistant organisms in dialysis patients. *Semin Dial.* 2013;26(4):447–56.
5. Calfee DP. Multidrug-Resistant Organisms Within the Dialysis Population: A Potentially Preventable Perfect Storm. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2014;65(1):3–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2014.10.003>
6. Redfield RR. Antibiotic resistance threats in the United States. *Centers Dis Control Prev.* 2019;148.
7. Pop-Vicas A, Strom J, Stanley K, D'Agata EMC. Multidrug-resistant gram-negative bacteria among patients who require chronic hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008 May;3(3):752–8.
8. Snyder GM, D'Agata EM. Novel antimicrobial-resistant bacteria among patients requiring chronic hemodialysis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* [Internet]. 2012;21(2):211–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22240441>
9. World Health Organization. ANTIBACTERIAL AGENTS IN CLINICAL DEVELOPMENT an analysis of the antibacterial clinical development pipeline. 2019.
10. Karaaslan A, Soysal A, Altinkanat Gelmez G, Kepenekli Kadayifci E, Söyletir G, Bakir M. Molecular characterization and risk factors for carbapenem-resistant Gram-negative bacilli colonization in children: Emergence of NDM-producing *Acinetobacter baumannii* in a newborn intensive care unit in Turkey. *J Hosp Infect* [Internet]. 2016;92(1):67–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2015.09.011>
11. Detsis M, Karanika S, Mylonakis E. ICU Acquisition Rate, Risk Factors, and Clinical Significance of Digestive Tract Colonization with Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: A Systematic Review and Meta-Analysis\*. *Crit Care Med.* 2017;45(4):705–14.
12. Alejandro Díaz, , Diana Cristina Ortiz, Mónica Trujillo, MD, Carlos Garcés, Fabian Jaimes AVR. Clinical Characteristics of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* Infections in Ill and Colonized. 2016;35(3):237–41.
13. César J, García C, Amaya S, Brice W. Risk factors for carbapenem-resistant bacterial infection or colonization : A case control study. 2016;(xx).



14. Denholm JT, Huysmans M, Spelman D. Community acquisition of ESBL-producing *Escherichia coli*: a growing concern. *Med J Aust* [Internet]. 2009;190(1):45–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19120010>
15. Biehl LM, Schmidt-Hieber M, Liss B, Cornely OA, Vehreschild MJ. Colonization and infection with extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in high-risk patients - Review of the literature from a clinical perspective. *Crit Rev Microbiol*. 2014/02/06. 2016;42(1):1–16.
16. Richter SS, Marchaim D. Screening for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Who, When, and How? *Virulence*. 2017;8(4):417–26.
17. Logan LK, Weinstein RA. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *J Infect Dis*. 2017/04/05. 2017;215(suppl\_1):S28-s36.
18. Fram D, Okuno MF, Taminato M, Ponzio V, Manfredi SR, Grothe C, et al. Risk factors for bloodstream infection in patients at a Brazilian hemodialysis center: a case-control study. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2015/03/26. 2015;15:158. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25879516>
19. Fariñas MC, García-Palomo JD, Gutiérrez-Cuadra M. Infection associated with hemodialysis and peritoneal dialysis catheters. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2008;26(8):518–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19094867>
20. Murray EC, Marek A, Thomson PC, Coia JE. Gram-negative bacteraemia in haemodialysis. *Nephrol Dial Transpl* [Internet]. 2015;30(7):1202–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25958400>
21. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis*. 2015;13(9):785–96.
22. Gales AC, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: Results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;73(4):354–60.
23. González L, Cortés JA. Revisión sistemática de la farmacoresistencia en enterobacterias de aislamientos hospitalarios en Colombia. 2014;

24. Hernández-Gómez C, Blanco VM, Motoa G, Correa A, Maya JJ, De la Cadena E, et al. Evolución de la resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Biomédica*. 2013;34(0):91.
25. Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR Recomm Rep* 50:1–43, 2001.
26. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* [Internet]. 2008/06/10. 2008;36(5):309–32. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=18538699](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18538699)
27. Leistner R, Meyer E, Gastmeier P, Pfeifer Y, Eller C, Dem P, et al. Risk factors associated with the community-acquired colonization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive *Escherichia Coli*. an exploratory case-control study. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(9):e74323. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24040229>
28. Villar HE, Baserni MN, Jugo MB. Faecal carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae and carbapenem-resistant Gram-negative bacilli in community settings. *J Infect Dev Ctries* [Internet]. 2013;7(8):630–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23949299>
29. Karanika S, Karantanos T, Arvanitis M, Grigoras C, Mylonakis E. Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2016/05/03. 2016;63(3):310–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27143671>
30. Department of Health and Human Services C for disease C and prevention. Laboratory Protocol for Detection of Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing , *Klebsiella spp* . and *E . coli* from Rectal Swabs. *Cdc*. 2008;(5):1–6.
31. CLSI. 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28nd informational supplement . CLSI document M100-S28 . Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
32. Dallenne C, Da Costa A, Decré D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important  $\beta$ -lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2010 Mar [cited 2018 May 14];65(3):490–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20071363>

33. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2011 May [cited 2018 May 14];70(1):119–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21398074>
34. da Silva Dias RC, Borges-Neto AA, D’Almeida Ferraiuoli GI, de-Oliveira MP, Riley LW, Moreira BM. Prevalence of AmpC and other beta-lactamases in enterobacteria at a large urban university hospital in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2007/09/27. 2008;60(1):79–87. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17900845>
35. Wirth T, Falush D, Lan R, Colles F, Mensa P, Wieler LH, et al. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Mol Microbiol* [Internet]. 2006;60(5):1136–51. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16689791>
36. Feil EJ, Li BC, Aanensen DM, Hanage WP, Spratt BG. eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *J Bacteriol* [Internet]. 2004;186(5):1518–30. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14973027>
37. Tseng WP, Chen YC, Yang BJ, Chen SY, Lin JJ, Huang YH, et al. Predicting multidrug-resistant gram-negative bacterial colonization and associated infection on hospital admission. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2017;38(10):1216–25.
38. Tseng WP, Chen YC, Chen SY, Chen SY, Chang SC. Risk for subsequent infection and mortality after hospitalization among patients with multidrug-resistant gram-negative bacteria colonization or infection. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018;7(1):1–12.
39. Iacob S, Iacob DG. Infectious Threats, the Intestinal Barrier, and Its Trojan Horse: Dysbiosis. *Front Microbiol*. 2019;10(August):1–17.
40. Bielaszewska M, Dobrindt U, Gärtner J, Gallitz I, Hacker J, Karch H, et al. Aspects of genome plasticity in pathogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol*. 2007;297(7–8):625–39.
41. Birgand G, Armand-Lefevre L, Lolom I, Ruppe E, Andremont A, Lucet JC. Duration of colonization by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae after hospital discharge. *Am J Infect Control* [Internet]. 2012/09/19. 2013;41(5):443–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22998785>
42. Lewis JD, Enfield KB, Mathers AJ, Giannetta ET, Sifri CD. The limits of serial surveillance cultures in predicting clearance of colonization with carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Infect*

- Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2015/03/17. 2015;36(7):835–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25777261>
43. Donskey CJ. Antibiotic Regimens and Intestinal Colonization with Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacilli. Oxford Univ Press. 2016;43.
44. Martins LR, Pina SM, Simões RL, de Matos AJ, Rodrigues P, da Costa PM. Common phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns found in a case study of multiresistant *E. coli* from cohabitant pets, humans, and household surfaces. J Env Heal [Internet]. 2013;75(6):74–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23397653>
45. Villegas MV, Correa A, Perez F, Zuluaga T, Radice M, Gutkind G, et al. CTX-M-12  $\beta$ -Lactamase in a *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolate in Colombia. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(2):629–31.
46. Gaitán C SL, Espinal M P a. Caracterización molecular de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en hospitales de la Región Caribe, Colombia. Rev Chil infectología. 2009;26(29):239–46.
47. Virginia Villegas M, Lolans K, Correa A, Jose Suarez C, Lopez JA, Vallejo M, et al. First Detection of the Plasmid-Mediated Class A Carbapenemase KPC-2 in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(8):2880–2.
48. Nicolas-Chanoine MH, Bertrand X, Madec JY. *Escherichia coli* st131, an intriguing clonal group. Clin Microbiol Rev. 2014;27(3):543–74.
49. Morales Barroso I, López-Cerero L, Navarro MD, Gutiérrez-Gutiérrez B, Pascual A, Rodríguez-Baño J. Intestinal colonization due to *Escherichia coli* ST131: Risk factors and prevalence. Antimicrob Resist Infect Control. 2018;7(1):1–6.
50. Kantele A, Mero S, Kirveskari J, Lääveri T. Fluoroquinolone antibiotic users select fluoroquinolone-resistant ESBL-producing Enterobacteriaceae (ESBL-PE) - Data of a prospective traveller study. Travel Med Infect Dis [Internet]. 2017/01/31. 2017;16:23–30. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28153711>
51. Ny S, Sandegren L, Salemi M, Giske CG. Genome and plasmid diversity of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-producing *Escherichia coli* ST131 - tracking phylogenetic trajectories with Bayesian inference. Sci Rep [Internet]. 2019/07/16. 2019;9(1):10291. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31312006>

52. Tacconelli E, Górská A, De Angelis G, Lammens C, Restuccia G, Schrenzel J, et al. Estimating the association between antibiotic exposure and colonization with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative bacteria using machine learning methods: a multicentre, prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(1):87–94.
53. Nakai H, Hagihara M, Kato H, Hirai J, Nishiyama N, Koizumi Y, et al. Prevalence and risk factors of infections caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae. *J Infect Chemother* [Internet]. 2016/03/08. 2016;22(5):319–26. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26968486>
54. Vodovar D, Marcadé G, Rousseau H, Raskine L, Vicaut E, Deye N, et al. Predictive factors for extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae causing infection among intensive care unit patients with prior colonization. *Infection* [Internet]. 2014/04/13. 2014;42(4):743–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24728816>
55. Birgand G, Armand-Lefevre L, Lolom I, Ruppe E, Andremont A, Lucet JC. Duration of colonization by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae after hospital discharge. *Am J Infect Control* [Internet]. 2013;41(5):443–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2012.05.015>
56. Sweeney DA, Kalil AC. Emergence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Colonization: What Termites Can Teach Us About the Gut Microbiota. *Crit Care Med* [Internet]. 2017;45(4):752–4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28291103>
57. Moor CT, Roberts SA, Simmons G, Briggs S, Morris AJ, Smith J, et al. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteria: factors associated with infection in the community setting, Auckland, New Zealand. *J Hosp Infect* [Internet]. 2008/03/19. 2008;68(4):355–62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18353497>
58. Schaumburg F, Alabi AS, Frielinghaus L, Grobusch MP, Köck R, Becker K, et al. The risk to import ESBL-producing Enterobacteriaceae and Staphylococcus aureus through chicken meat trade in Gabon. *BMC Microbiol* [Internet]. 2014/11/19. 2014;14:286. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25406798>
59. Nguyen VT, Jamrozy D, Matamoros S, Carrique-Mas JJ, Ho HM, Thai QH, et al. Limited contribution of non-intensive chicken farming to ESBL-producing Escherichia coli colonization in humans in Vietnam: an epidemiological and genomic analysis. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2019;74(3):561–70. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30629197>

## TABLES

**Table 1.** Univariate and multivariate analysis for identification of factors associated with colonization by ESBL-producing Gram-negative bacilli in hemodialysis patients

Variable	Univariate analysis				Multivariate analysis			
	OR	95% CI		p value	OR	95% IC		p value
Male sex	1.06	0.65	1.73	0.803				
Age (years)	1.00	0.99	1.02	0.717				
Comorbidities								
COPD <sup>a</sup>	3.40	1.39	8.30	0.007	3.40	1.35	8.56	0.009
Diabetes <sup>b</sup>	1.00	0.61	1.62	0.988	0.95	0.58	1.55	0.829
Hematologic tumor or malignancy <sup>b</sup>	0.57	0.21	1.50	0.252	0.52	0.20	1.39	0.195
Karnofsky index <sup>c</sup>	0.99	0.97	1.01	0.217	0.99	0.97	1.01	0.211
femoral catheter (jugular reference) <sup>d</sup>	1.86	0.71	4.86	0.207	1.79	0.60	5.37	0.297
Previous infection by ESBL-GNB <sup>e</sup>	3.82	0.66	22.17	0.135	4.23	0.69	26.10	0.120
Previous hospitalization <sup>f</sup>	1.35	0.88	2.05	0.164	1.43	0.93	2.19	0.102
Previous use of antibiotics								
Piperacillin/Tazobactam <sup>g</sup>	0.61	0.22	1.74	0.360	0.52	0.18	1.54	0.239
Cephalosporins 3 <sup>a</sup> G <sup>g</sup>	1.06	0.30	3.82	0.923	0.99	0.28	3.47	0.989
Aminoglycosides <sup>g</sup>	1.19	0.68	2.09	0.544	1.04	0.59	1.86	0.885
Quinolones /fluroquinolones <sup>g</sup>	3.11	1.04	9.34	0.043	3.13	1.03	9.44	0.043
Dialysis time (months) <sup>h</sup>	1.00	0.99	1.01	0.123	1.00	0.99	1.00	0.099
Stay in the elderly <sup>c</sup>	2.33	0.36	14.93	0.370	2.26	0.28	18.21	0.442
Pork consumption per week (reference								
none)	0.97	0.50	1.91	0.937	0.98	0.50	1.92	0.946
Once a week	0.70	0.34	1.45	0.339	0.70	0.34	1.44	0.335
Twice a week	1.13	0.42	1.04	0.708	1.13	0.59	2.13	0.715
Three or more times a week								

Chicken meat consumption per week								
(reference none) <sup>i</sup>								
Once a week	0.39	0.18	0.84	0.016	0.39	0.18	0.85	0.018
Twice a week	0.53	0.27	1.06	0.075	0.53	0.26	1.06	0.073
Three or more times a week	0.43	0.22	0.86	0.017	0.42	0.21	0.85	0.016
Tap water consumption (reference boiled or filtered) <sup>j</sup>								
	1.48	0.88	2.48	0.138	1.48	0.88	2.49	0.137

<sup>a</sup> Adjusted by: current smoking, age, hospitalization, antibiotic use

<sup>b</sup> Adjusted by age, sex, hospitalization

<sup>c</sup> Adjusted by sex, age, Charlson index, dialysis time

<sup>d</sup> Adjusted by age, dialysis time, previous infection

<sup>e</sup> Adjusted by: Charlson index, dialysis time, femoral catheter

<sup>f</sup> Adjusted by: Charlson index, dialysis time, age, sex

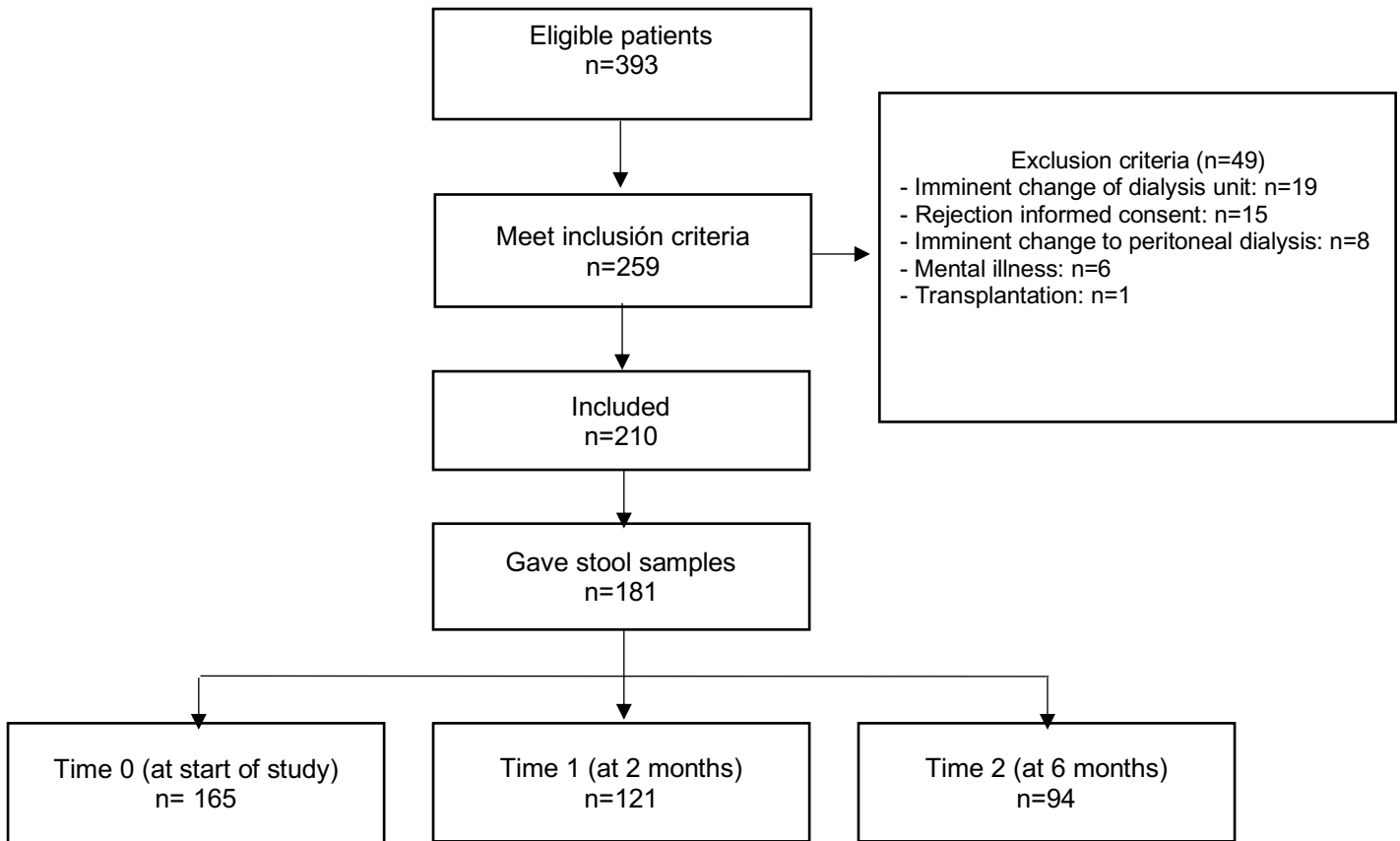
<sup>g</sup> Adjusted by: Charlson index, hospitalization, stay in the elderly

<sup>h</sup> Adjusted by: Charlson index, previous ESBL-GNB infection

<sup>i</sup> Adjusted by: Charlson index, socioeconomic

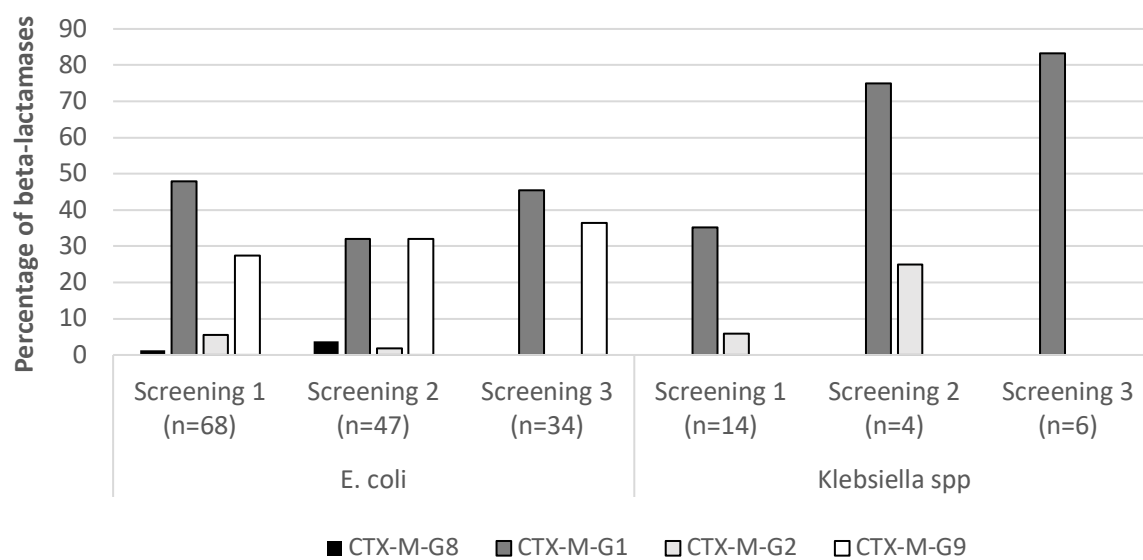
<sup>j</sup> Adjusted by: socioeconomic

## FIGURES

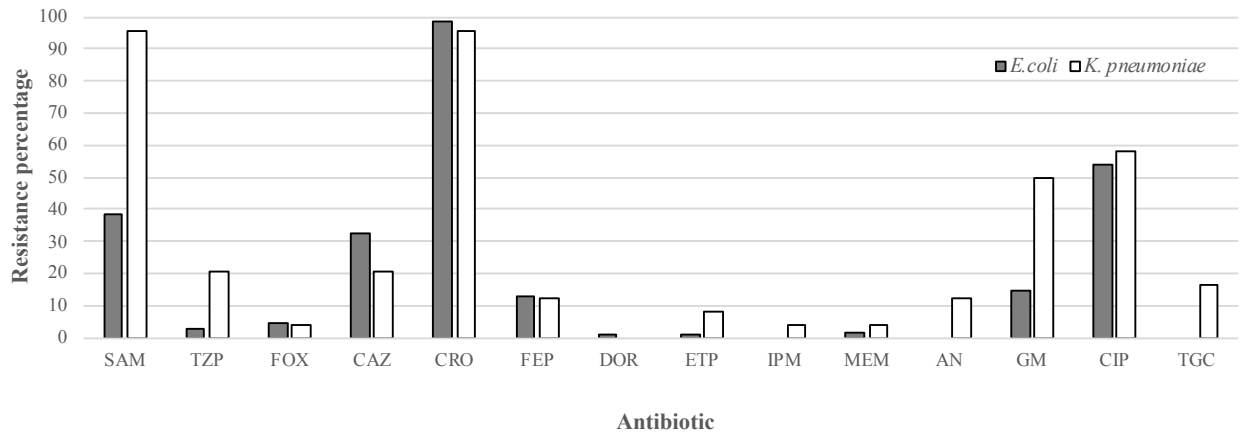
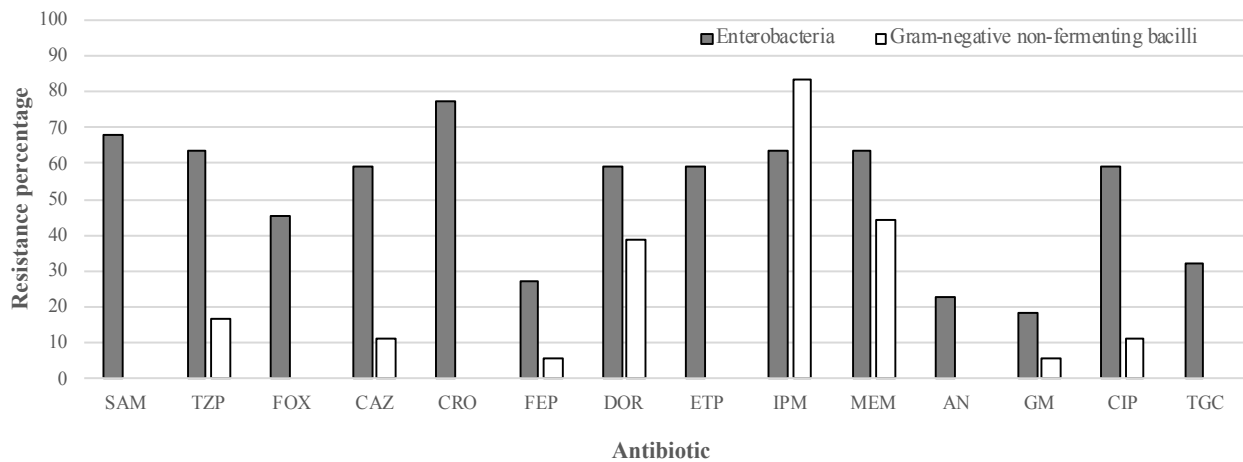


**Figure 1.** Flowchart illustrating inclusion of patients and colonization screening times





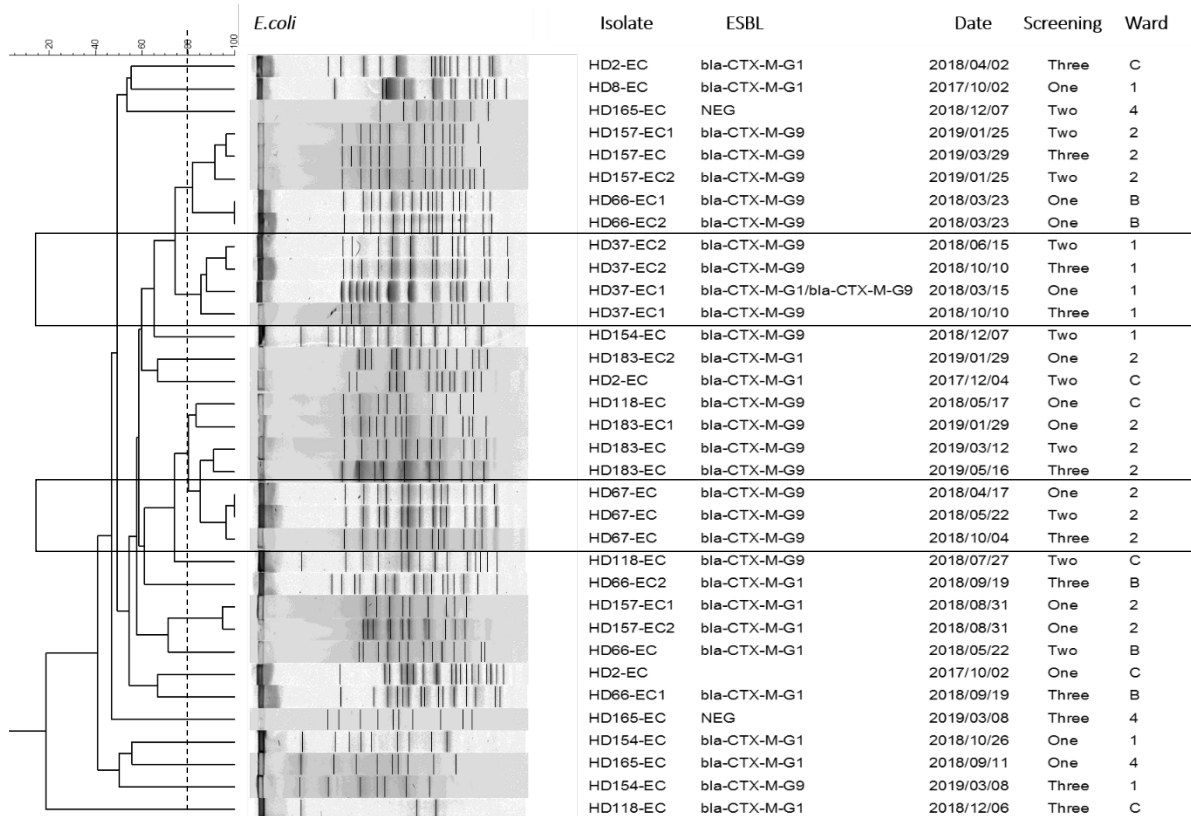
**Figure 2.** Frequency of extended-spectrum beta-lactamases among *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp isolates colonizing hemodialysis patients. CTX-M group 1 includes CTX-M-1, CTX-M-3 and CTX-M-15; CTX-M group 2 includes CTX-M-2 and CTX-M group 9 includes CTX-M-9 and CTX-M-14; CTX-M group 8/25 includes CTX-M-8, CTX-M25, CTX-M-26, CTX-M-39 and CTX-M-41

**A****B**

**Figure 3.** Resistance percentages among ESBL-producing and carbapenem-resistant Gram-negative bacilli colonizing hemodialysis patients. A. ESBL-producing Gram-negative bacilli: *E. coli* (n=135) and *K. pneumoniae* (n=24). B. Carbapenem-resistant Gram-negative bacilli: Enterobacteria (n=22) and non-fermenting Gram-negative bacilli (n=18). Gram-negative non-fermenting bacilli were not assessed to antibiotics which they are intrinsic resistant. *Pseudomonas aeruginosa* was not assessed to SAM, FOX, CRO, ETP, TGC. *Acinetobacter baumannii* was not assessed to ETP. Enterobacteriaceae as *Enterobacter cloacae* complex were not assessed to SAM and FOX

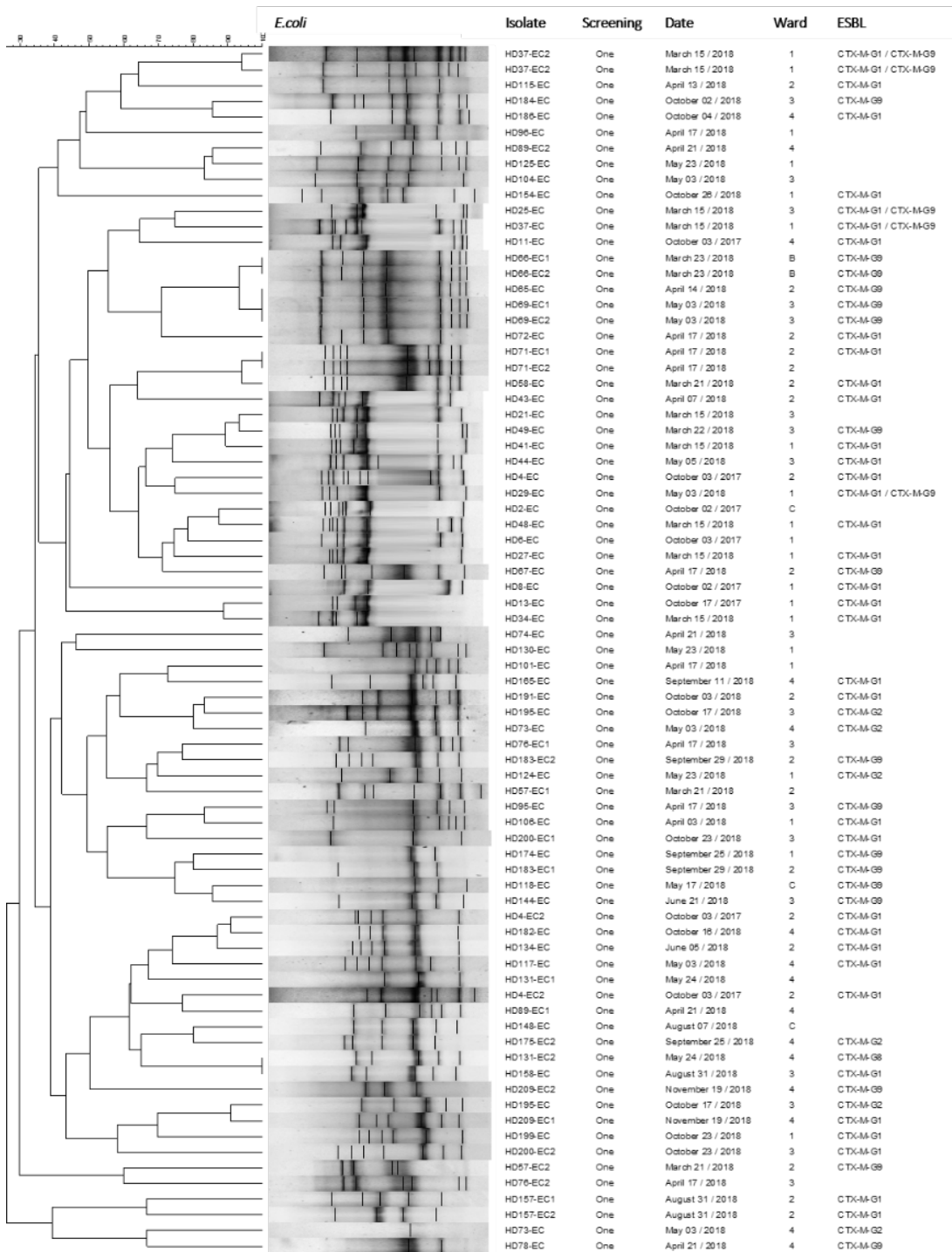
Bacteria	T0 Start	T1 Month two	T2 Month six	n (%)	Total	Colonization type
ESBL-GNB (n=67)				21 (31.3)	n=21	Absent
				10 (14.9)	n=34	Intermittent
				8 (11.9)		
				6 (8.9)		
				5 (7.5)		
				3 (4.5)		
				2 (3.0)	n=12	Persistent
				12 (17.9)		
CAR-GNB (n=67)				53 (79.1)	n=53	Absent
				6 (8.9)	n=13	Intermittent
				2 (3.0)		
				2 (3.0)		
				2 (3.0)		
				1 (1.5)		
				1 (1.5)		

**Figure 4.** Dynamics of the colonization by ESBL-GNB and CAR-GNB in hemodialysis patients with three screenings performed. Square highlighted indicate presence of colonization

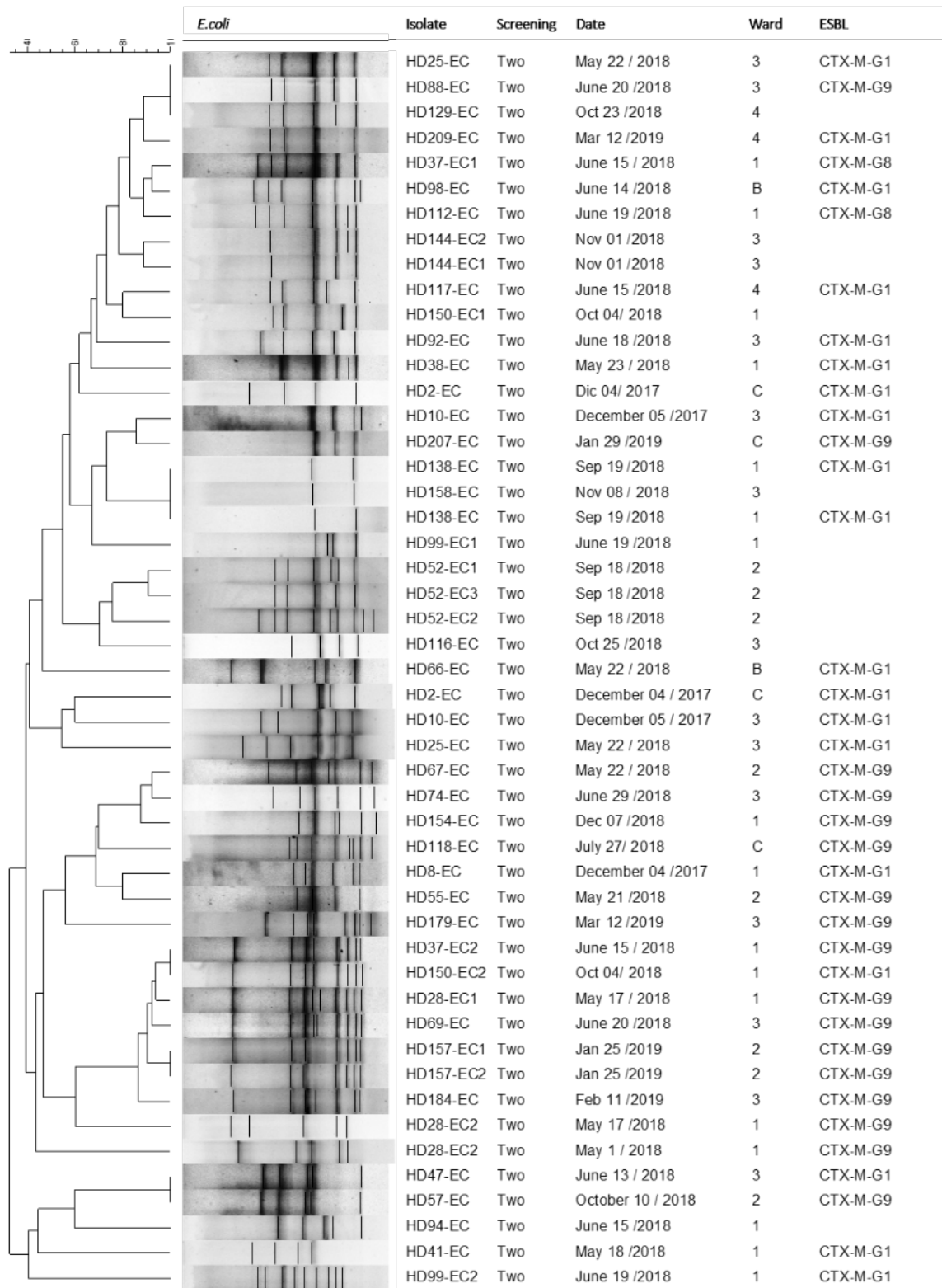


**Figure 5.** Genetic relationship of *E. coli* isolates colonizing persistent carriers using PFGE. The broken line corresponds to the cutoff level (80%) used to define clones as related. Rectangles highlight isolates with related genetic patterns (Dice coefficient >80%)

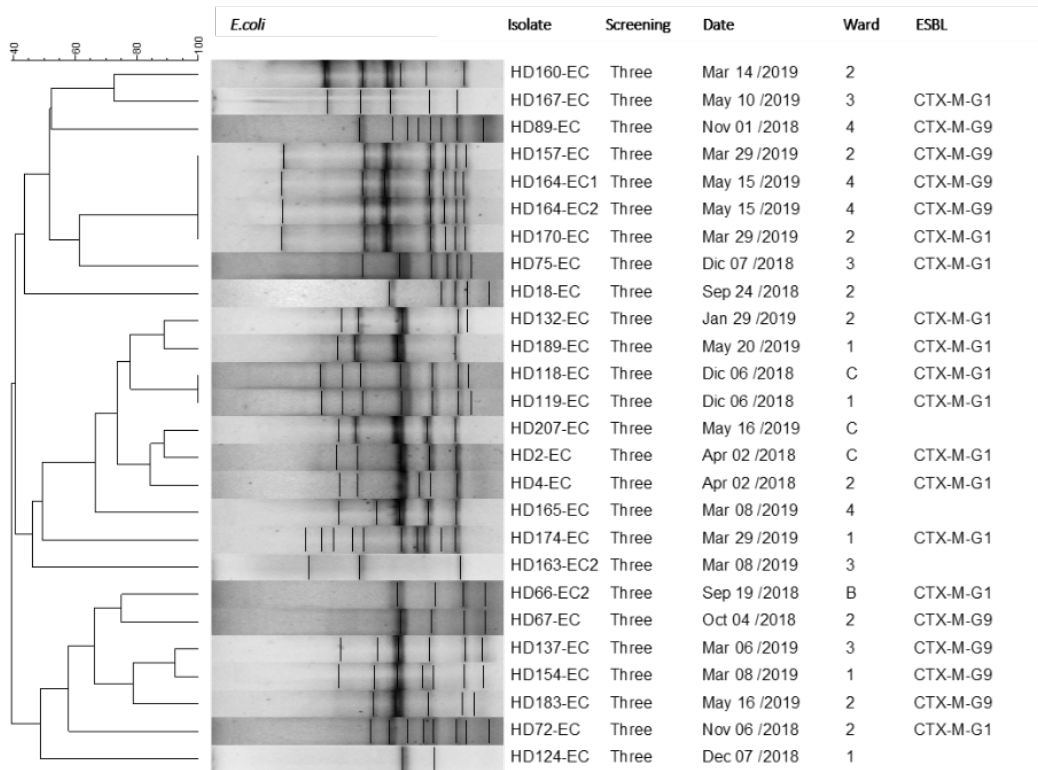
## SUPPORTING INFORMATION



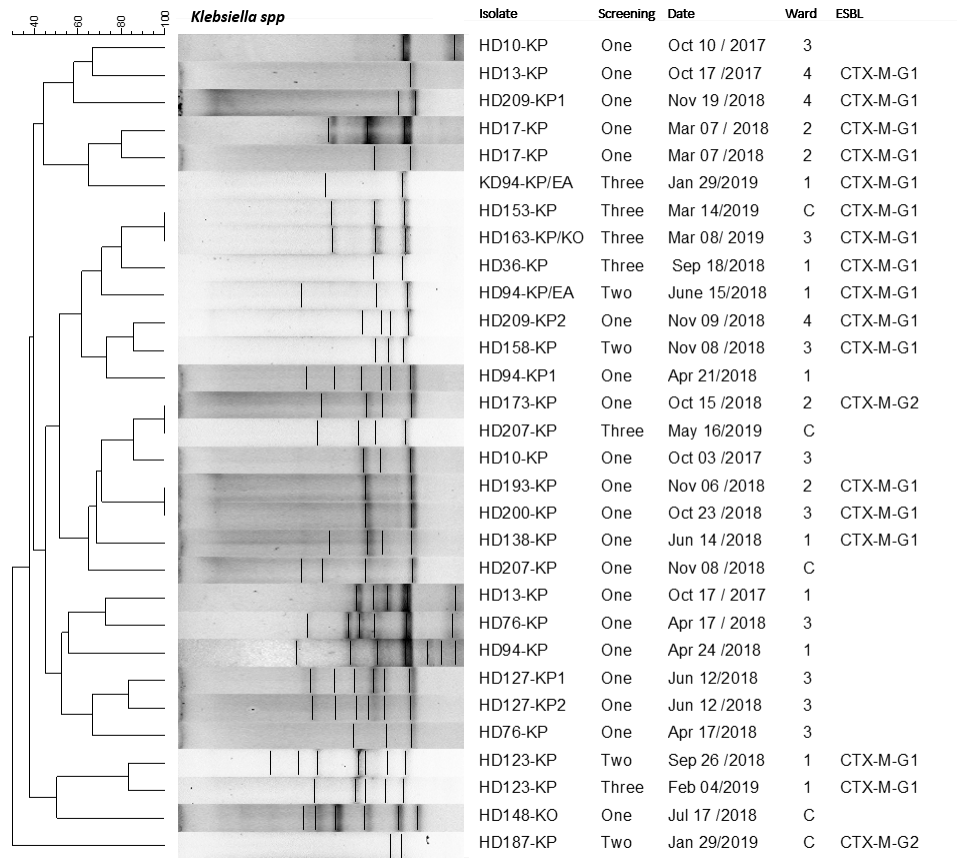
**Figure S1.** Genetic relationship of *E.coli* isolates collected in sampling one



**Figure S2.** Genetic relationship of *E.coli* isolates collected in sampling two



**Figure S3.** Genetic relationship of *E.coli* isolates collected in sampling three



**Figure S4.** Genetic relationship of *Klebsiella spp* isolates collected in sampling one, two and three



## **CAPÍTULO 4: Asociación entre la colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos y el desarrollo de bacteriemia**

Este capítulo incluye los resultados obtenidos para los objetivos 3 y 4 en cuanto al análisis de la asociación entre la colonización por bacterias sensibles y resistentes a antibióticos betalactámicos y el desarrollo de bacteriemia así como la descripción de los desenlaces clínicos: necesidad de hospitalización, estancia hospitalaria y muerte en los pacientes que desarrollen bacteriemia. Incluye también los resultados relacionados con el objetivo 5 en cuanto a la determinación del grado de relación genética de las bacterias detectadas en los pacientes colonizados e infectados.

**Artículo:** Colonization by *Staphylococcus aureus* increases the risk of bacteremia in hemodialysis patients: a time-dependent analysis and molecular epidemiology

**Autores:** Johanna M Vanegas, Lorena Salazar-Ospina, J Natalia Jiménez

**Revista:** Sometido American Journal of Infection Control

**Colonization by *Staphylococcus aureus* increases the risk of bacteremia in hemodialysis patients:  
a time-dependent analysis and molecular epidemiology**

Johanna M. Vanegas, MS<sup>1</sup>; Lorena Salazar-Ospina, BS<sup>1</sup>; Gustavo Roncancio, MD, MS<sup>2</sup>; J Natalia Jiménez, PhD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Investigación en Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Departamento de Enfermedades Infecciosas. Clínica CardioVID. Medellín, Colombia

**Corresponding author:** Judy Natalia Jiménez. Email: [jnatalia.jimenez@udea.edu.co](mailto:jnatalia.jimenez@udea.edu.co) Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Street 67, 53- 108, Block 5, office 135, Medellín, Colombia.

## ABSTRACT

**Background:** Bacteremia is the second cause of death in hemodialysis patients and colonization may be a risk factor. We analyze the association between *S. aureus* and multidrug-resistant Gram-negative bacteria colonization with the development of bacteremia in hemodialysis patients

**Methods:** A prospective cohort study was conducted. Colonization status was determined at baseline, 2 and 6 months later. Analysis of time to first bacteremia was carried out using the baseline status and time-dependent nature of the colonization. Recurrence of bacteremia given colonization status was evaluated using Poisson regression model. Genetic relation between isolates colonizing and causing bacteremia were performed by molecular typing methods.

**Results:** 71 bacteremias were presented during follow-up, the most caused by *S. aureus* (n=28; 39.4%). Colonization status by *S. aureus* was associated with an increased risk of bacteremia in time-dependent analysis (HR=4.64; 95%CI: 1.72, 12.53) and with the recurrence of this infection in Poisson model (IRR=5.90, 95%CI: 2.29, 15.16). Molecular methods revealed that 77.8% of the patients infected with *S. aureus* were colonized with the same strain causing bacteremia.

**Conclusions:** *Staphylococcus aureus* is a cause of endogenous infection in hemodialysis patients. Permanent screening and prompt decolonization are highly recommended.

**KEYWORDS:** Colonization, bacteremia, hemodialysis, *Staphylococcus aureus*, time-dependent analysis

## INTRODUCTION

Infections are the second cause of hospitalization and death after of cardiovascular disease in hemodialysis patients (1). The risk of bacteremia is 26 times-fold higher in these patients in comparison with general population, being Gram-positive bacteria the main cause of infection (2).

Colonization by bacteria as *Staphylococcus aureus* has been suggested as one of the main risk factors to development of bacteremia in hemodialysis patients and the emergence of resistant isolates complicates even more this situation (3, 4). Colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is reported with a frequency between 1.4% to 27% in hemodialysis patients and of them between 17%-35% acquire invasive infections as bacteremia (5). However, dissemination of multidrug-resistant Gram-negative bacilli producing beta-lactamases in hospital and community has prompted research towards these bacteria due to their high capacity of transmission (6).

The majority of studies that have evaluated association between colonization and infection in hemodialysis patients have some limitations around colonization screening to just one time point, lack of long follow-up for evaluation of outcomes, screening only of *S. aureus* without including other bacteria as multidrug-resistant Gram-negative bacilli, lack of knowledge about the prognosis of patients colonized with bacteremia and lack of molecular methods to confirm that isolates colonizing are the same ones causing infection (3, 7-10).

Given the importance of evaluating the role of bacterial colonization in the development of infections in hemodialysis patients, it is necessary to use additional methods that refine the analysis of this association. In recent years, advances in molecular biology have led to significant progress in the study of infectious diseases and epidemiological studies should integrate them into their study designs (11).

The main aim of this study was to analyze the association between *S. aureus* and multidrug-resistant Gram-negative bacteria colonization with the development of bacteremia in a cohort of patients in hemodialysis. The above considering colonization as time-dependent variable and refining analysis under the molecular epidemiology approach.

## METHODS

**Study type and population:** A prospective cohort study was conducted at an ambulatory hemodialysis center associated with a major hospital in Medellín (Colombia), from October 2017 to October 2019. This center has 72 stations and regularly provides outpatient hemodialysis to around 350 adult patients. Active surveillance for the detection of colonization for *S. aureus* or ESBL-producing Gram-negative bacilli (ESBL-GNB) had not been implemented neither before nor during this study. All patients with age 18 years or older and with central venous catheter in hemodialysis were invited to participate in the study and written informed consent was obtained from each subject.. The study protocol was approved by the Bioethics Committee for Human Research of the Universidad de Antioquia (CBEIH-SIU) (approval no.18-35-819).

**Exposures:** The primary exposure of interest was the colonization status for *S. aureus* and ESBL-GNB, which by design were to be determined at baseline and subsequently at 2 and 6 months. To determine the putative associations of these exposures with the outcome of interest, we carried out analyses using only the baseline colonization status and in addition, we also included the time-dependent nature of the colonization collected at 2 and 6 months. Colonization was defined according to CDC as presence of bacteria in a body site, without signs or symptoms of disease (12).

**Outcomes:** The first outcome of interest was the time to first bacteremia caused by any bacteria which was recorded on a continuous basis up to 12 months of follow-up when all individuals under follow-up were administratively censored.

Due to *S. aureus* being the most frequent microorganism causing bacteremia in hemodialysis patients, we also consider time to the bacteremia caused by this bacteria in order to increased specificity of the colonization type. In this case, other times to bacteremia caused by other bacteria were considered as censored observations and thus the analysis corresponds to the cause-specific hazards from a competing risks perspective.

As bacteremia were repeatedly observed in some participants and in order to determine whether the recurrence of bacteremia may be related to the exposures of interest, we calculated the number of bacteremias among the person-months while participants were negative for a colonization of interest and the corresponding ones while the participants were positive for a colonization of interest. Bacteremia was defined according CDC criteria, as presence of fever, chills or hypotension with bacteria identified in

blood and not related to an infection at another site (13, 14). Bacteremia caused by common commensal was included if microorganism was identified from two or more blood specimens (13, 14).

**Covariates:** To provide adjusted measures of association between colonization and outcomes, we included variables as confounders for those suggested previously in the literature and those is causal diagram between the exposure and the outcome (Supp 1) (2, 15-23). Specifically, fixed variables measured at baseline included: Charlson index, duration in dialysis, catheter type and fistula. As albumin, use of antibiotics and hospitalization were recorded at baseline and at 2 and 6 month visits, we included these changes in the analysis as time dependent variables.

**Epidemiological characteristics:** Epidemiological information was obtained from medical records and interviews with each patient. The information included sociodemographic, clinical and dialysis characteristics such as: age, hospitalization history, antimicrobial use, site of colonization, comorbidities, catheter type and dialysis time. Additionally, we evaluated prognosis (need for hospitalization, hospital stay and death) in infected patients according to colonization status.

**Colonization screening:** All patients were screened for *S. aureus* colonization in nostrils and skin around the catheter insertion site, using sterile cotton swabs with sterile 0.9% saline solution. Each swab was rotated two or three times in the vestibule of both anterior nares and immediately placed in Amies transport medium with charcoal. Swabs were enriched in trypticase soy broth (TSB) overnight at 37°C and then plated on mannitol salt agar. Preliminary identification of *S. aureus* was conducted by standard laboratory methods based on colony morphology in sheep blood agar and positive catalase and coagulase tests. Colonization by ESBL-GNB was evaluated in a stool sample recollected by each patient. One hundred milligrams of each sample were enriched in TSB overnight and streaked on Chromo ChromID® ESBL (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) for detection of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL). Identification of isolates and determination of their antibiotic susceptibilities were carried out with the automated Vitek 2 system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) according to CLSI 2018 cutoff points (24).

**Molecular detection of resistance mechanisms to beta-lactam antibiotics:** DNA was extracted from the isolates using the Wizard Genomic DNA purification kit (Promega) according to the manufacturer's instructions. In *S. aureus* isolates, the presence of the species-specific *nuc* gene (specie specific) as well

as the *mecA* gene (determinant of methicillin resistance) was verified by polymerase chain reaction (PCR) as previously described (25, 26). In Gram-negative bacilli the identification of genes coding ESBL (CTX-M) was performed by multiplex PCR, according to previously reported protocols (27).

**Molecular typing:** Genetic relatedness of isolates was conducted using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), which was performed using *SmaI* restriction enzyme for *S. aureus* (Thermo Scientific, United States) (28). Cluster analysis was performed using the Dice coefficient with BioNumerics software version 6.0 (Applied Maths, SintMartens-Latem, Belgium). Dendrograms were generated by the unweighted-pair group method using average linkages (UPGMA), with 1% tolerance and 0.5% optimization settings. A similarity cutoff of 80% was used to define genetically related strains.

The polymorphic X region of the protein A gene (*spa*) was amplified and sequenced in *S. aureus* isolates and corresponding *spa* types were assigned using the *spa* typing website (<http://www.spaserver.ridom.de/>) (29). Clonal complexes were inferred by *spa* repeat pattern analysis or by referring to the Ridom SpaServer website (30).

Genetic relatedness in *E. coli* and *K. pneumoniae* was evaluated using enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR (ERIC), as was previously described (31). Results were analyzed by visual inspection and with the BioNumerics software version 6.0 (Applied Maths, SintMartens-Latem, Belgium), using Dice index and UPGMA.

**Statistical analyses:** Molecular, clinical and prognosis (need for hospitalization and death) characteristics were described using absolute and relative frequencies. Hospital stay was described as median and interquartile range, according to the not compliance of the assumption of normality.

For the first outcome of interest (time to first bacteremia from baseline and using the colonization status at baseline as exposure of interest) the analysis corresponds to standard survival analysis methods using Kaplan-Meier curves. To incorporate the updated colonization status from samples obtained at subsequent visits, we partitioned the follow-up of each participant with three variables: 1) entry: zero at baseline and took positive values corresponding to the times samples were subsequently taken to determine colonization status; 2) exit: times when samples were subsequently taken up to the first time bacteremia occurred, if ever; 3) an indicator of the bacteremia status at exit (i.e., 0 if colonization is updated at exit or if the participant is lost to follow up or follow up is 12 months bacteremia-free; and 1 if participant is observed with bacteremia for the first time at exit). Methods of survival analysis for

staggered entries (time-dependent exposures) were used to estimate survival functions and to determine estimates and significance of HR of colonization both univariable and multivariable adjusted by possible confounders. To determine the possible association of the time updated colonization statuses and the recurrence of bacteremia, some of which occurred repeatedly in participants, we used as the outcome of interest the number of bacteremia among the person-months while participants were at a given colonization status. Classical methods based on modeling number of events as a Poisson variate whose mean is proportional to the number of person-months and the antilog of linear combinations of exposures of interest and covariates were used. However, since the repeated bacteremia are likely to be correlated, each patient was declared as cluster.

Different models were determined including possible confounding variables and Akaike information criterion (AIC) was calculated for each one of them to determine the most appropriate model. Statistical analyses were carried out using STATA software, version 14.0.

## RESULTS

Of 393 eligible patients with central venous catheter, a total of 210 patients were enrolled in the study. Flowchart illustrating inclusion of patients and follow-up is showed in Figure 1. Half of patients were females (50.5%, n=106), with a median age of 62 years (IQR: 51.87-71.13). The majority of patients revealed frequent hospitalization history (69%, n=145) and use of antibiotics within the past 6 months (59%, n=124). Thirty-four percent of patients (n=72) did not want to change the catheter for fistula. Charlson index mean was 5.6 (SD 2.3).

In relation with colonization, 68.6% (n=46) and 57.2% (n=81) patients were colonized by *Staphylococcus aureus* and ESBL-GNB at least one of the three screenings, respectively. Fifty patients developed bacteremia (for an incidence rate of 3 bacteremia / 10 person months) and fifteen of them presented recurrent bacteremia for a total of seventy one outcomes presented during follow-up (nine patients with 2 bacteremia and six with 3). The majority of bacteremias were caused by *S. aureus* (n=28; 39.4%) (Figure 2). Four patients developed bacteremia caused by MRSA (1.9%) and all of them were colonized and developed recurrent infections by this bacteria.

Comparison of clinical characteristics according to presence of bacteremia using time-updated colonization showed that stay in ward C, femoral catheter use, time on dialysis, moisten the catheter and



use of aminoglycosides were risk factors associated in univariate analysis with time to first bacteremia caused by any bacteria (Table 1). By contrast, the change to fistula during follow-up was protective factor to development of bacteremia (Table 1). Interaction between time on dialysis with age and Charlson index was evaluated but we found no significant differences (Table 1).

For the evaluation of time to first bacteremia caused by any bacteria, standard survival analysis using baseline colonization did not suggest an association between colonization by *S. aureus* or ESBL-GNB and development of bacteremia (Table 2, Figure 3A). However, when the colonization status was included according the results obtained in each screening, survival analysis showed association between *S. aureus* colonization and bacteremia by this same bacteria (HR:4.93, 95% CI 1.89, 12.88), but not to bacteremia caused by any bacteria (Table 2, Figure 3B). Likewise, Kaplan-Meier curves in time-updated colonization analysis showed bigger effect size in comparison with Kaplan-Meier curves including only baseline colonization (Figure 3).

To determine the possible association of the time updated colonization status and the recurrence of bacteremia, univariate analysis using Poisson model showed association between *S. aureus* colonization and the number of bacteremia caused by any bacteria and by this same microorganism (IRR: 2.06, 95% CI 1.19, 3.58 and IRR: 6.37, 95% CI 2.68, 15.16; respectively) (Table 2).

In multivariate analysis, the association between *S. aureus* colonization and bacteremia for this bacteria was maintained in time-dependent model even after adjusting for confusion variables (Table 3). However, association between *S. aureus* colonization and number of bacteremia caused by any bacteria presented a confidence interval close to unity in the models 1 and 2 and this association was lost when was adjusted in the model 3 (Table 3).

According to Akaike information criterion, the best model to show associations mentioned was model 4 both in time-updated colonization analysis and Poisson analysis. In this way, the risk of bacteremia by *S. aureus* is 4.64 times in patients colonized by this bacteria in comparison with non-colonized ones. Likewise, number of bacteremias caused by *S. aureus* among the person-months is 5.90 times in patients colonized by this bacteria compared with non-colonized ones (Table 3).

In relation with prognosis of bacteremia observed, 58 (81.7%) patients needed hospitalization and 4 of them died during hospital stay (3 with infection caused by MSSA and 1 with infection caused by

*Enterococcus faecalis*). Particularity with *S. aureus*, all patients colonized needed hospitalization and patients with bacteremia by this bacteria had a hospital stay median of 15 days (IQR: 13-19). Patients with bacteremia caused by other bacteria had a similar median of 15 days (IQR: 11-20).

On the other hand, regarding to the molecular typing analysis of the isolates found, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was performed in 9/14 patients colonized by *S. aureus* and whom presented bacteremia by this same bacteria. Dendrogram revealed that 77.8% (n=7) of the patients infected were colonized with the same isolate causing infection, with a Dice index of 100% of similitude (Figure 4).

Clonal complex observed in isolates colonizing and causing infection included mainly CC8 and others as CC1, CC5 and CC45 (Figure 4). Two isolates causing infection in different patients (HD188 and HD163) had the same electrophoretic pattern suggesting a horizontal transmission. In relation with ESBL-GNB, patients colonized by ESBL-producing *E. coli* that developed bacteremia for this bacteria had different genetic profile using enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR (ERIC), suggesting that isolate colonizing was different from the one causing bacteremia (data not shown).

## **DISCUSSION**

In this study, the colonization by *S. aureus* was associated with the time to first bacteremia and recurrence of infection by this same bacteria in hemodialysis patients. This association was observed not only with statistic methods but also with molecular typing methods using PFGE and even later adjust for variables as age, sex, time on hemodialysis, Charlson index, change to fistula, type catheter and albumin. Standard survival analysis not evidenced this association because just baseline screening of colonization was included and proportional risk assumption was not met. Analysis with updated colonization status included results of patients who were not colonized in baseline but were colonized in screening two or three. Some of these patients developed bacteremia just after were positive for colonization by *S. aureus* and association between colonization to time to first bacteremia was evidenced. Similarity, Poisson analysis showed that *S. aureus* colonization was associated with recurrence of bacteremia for this bacteria, with a incidence rate to 5 times higher in colonized patients in comparison with non-colonized patients. Colonization by *S. aureus* was not associated with time to first bacteremia caused by any bacteria, so that apparently it is an association specific for the same bacterial specie.

Colonization and risk of infection by *S. aureus* has been also reported previously in other patients with orthopedic or cardiac surgeries who has increased risk of surgical site infections (32). Particularity in hemodialysis patients, baseline screening of colonization by *S. aureus* is not sufficient to determinate colonization status, due to time-dependent nature of this variable (33). Permanent surveillance is necessary to identify colonized patients with increased risk of infection; even more when some studies have shown that risk of bacteremia caused by *S. aureus* is higher in patients with two or more positive swabs during 12-month period (33).

Infections caused by MRSA has been associated with worse prognosis in hemodialysis patients (16). In this study frequency of bacteremia caused by MRSA was similar to found in other studies with percentages less than 4% (10). However, risk of bacteremia by this bacteria in MRSA carriers was of 18.2% (4/22) and all of patients had recurrent infections, pointing the importance to evaluate MRSA colonization to prevent infections with limited treatment options and up to 30% of mortality (10).

Although one-fifth of colonized hemodialysis patients will develop an infection by MRSA during 6-20 months, as has been shown in this and other studies (34), incidence of invasive infection by MRSA among dialysis patients appears decrease and the most of bacteremia are caused by methicillin-susceptible isolates (MSSA), so that colonization surveillance for this bacteria is also necessary to decreasing infections in colonized patients (35). Additionally, strategies as mupirocin nasal ointment combined with chlorhexidine body washes have shown effectivity in decolonization to MSSA and MRSA, ranging from 73% to 83% of clearance (35). Nostril and skin are the most body sites colonized by *S. aureus* so that treatment should include both sites to ensure successful decolonization (35). Prolonged mupirocin use must be taken with caution for the development of resistance, then its use should be selective and given main in patients with higher risk of infection or with recurrent infections (36). Additionally, cost analysis show that treating all patients result in more costs than treating just carriers (37). Decolonization has been suggested to MRSA carriers and also to MSSA carriers due to high frequency of bacteremia in patients colonized (38). Bacteremia caused by MSSA is severe and costly; complications include septic arthritis (6%) and endocarditis (12%) and cost cover \$200 million annually (15, 37).

Although risk of bacteremia has been reported higher in patients with persistent colonization, in this study the most patients infected with *S. aureus* were colonized of intermittent form (one or two positive

cultures) (39). This situation evidence colonization status in hemodialysis patients is dynamic and confirm one more time-dependent nature of colonization.

In relation with prognosis, infections caused by *S. aureus* has been associated with an increased risk of death and longer hospital stays (38). In this study, we not found differences in median of hospital stay in patients with *S. aureus* bacteremia in comparison with patients with infections caused by other bacteria. However, 3/4 patients died during hospitalization had bacteremia caused by MSSA. Likewise, requirement of hospitalization was higher in this work than reported in other studies with percentage of 81.7% vs 34%; respectively (1). Clones causing bacteremia were belong CC8, which have been community-associated and previously reported in infections from hospitalized patients in our city displacing hospital strains and in other Latin-American countries(40).

Vascular access type is also important to development of bacteremia in hemodialysis patients. Risk of bacteremia is up to 2 times higher in patients with central venous catheter in comparison with fistula (41). In Colombia as other countries in Latin-America, the most of patients in hemodialysis has catheter instead of fistula and there is high percentage of negation to use it for aesthetic reasons. In this study, 34% patients refused to change the catheter for the fistula and in the univariate time-dependent analysis patients who had this change had lower risk of bacteremia and recurrence with significant statistically differences (HR: 0.46; 95% IC: 0.23, 0.91 and IRR: 0.41; 95% IC: 0.20, 0.82; respectively). In this study, patients with femoral catheter had increased risk of infection as previously reported, evidencing importance sensitization fistula use in these patients (41). Catheter use is the most important risk factor for bacteremia; 70% of access-related bloodstream infections occur in patients with catheters (42).

On the other hand, Gram-negative bacteria cause 26% of bacteremia in hemodialysis patients and emergence of resistant mechanism in this bacterial group is a topic to concern (37). A study performed in hemodialysis patients colonized or infected by multidrug-resistant bacteria during hospital stay found that 48% (60/125) developed subsequent infection by these microorganisms in a 12-month follow-up period, with more than half caused by the same specie (43). In the present study, risk of bacteremia by ESBL-GNB was low and only one patient colonized by *E. coli* developed infection by this same bacteria, with a different genetic profile to colonizing strain. For this reason, control and prevention strategies in dialysis units should consider the transmission capacity of this bacteria, whose percentages of colonization can be higher in comparison with *S. aureus* (5). However, efforts should strengthen around

*S. aureus* due to high risk of endogenous infection in colonized patients. Even though catheter use should be minimized, a careful handling by patients and health-care workers is necessary (15).

A limitation of this study was the evaluation of just one dialysis unit, which can affect the generalizability of the results. However, hemodialysis patients population have similar characteristics that could lead to the results of this study can be extrapolated to different dialysis renal. A strength is la inclusion of molecular methods to refine statistical analysis and obtain results more valid.

In conclusion, this study evidence colonization by *S. aureus* is a cause of endogenous infection in hemodialysis patients. This association is not only to time to first bacteremia but also with recurrence of infections. Permanent surveillance and decolonization are mandatory to decrease an infection with serious complications and increased costs.

**Acknowledgments:** The authors thank to Ana Lucía Arbelaez and Luz Adriana Patiño by collection and storage of bacterial strains. The first author received statistical advice from professor Alvaro Muñoz from the Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health.

**Financial support:** This work was supported by Comité para el Desarrollo de la Investigación CODI, Universidad de Antioquia, project: 2017-15526 and Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e innovación Colciencias, project: 111577756947. Funding sources had no such involvement in the collection, analysis and interpretation of data, in the writing of the report or in the decision to submit the article for publication.

**Competing interests statement:** All authors report no conflicts of interest relevant to this article.

## REFERENCES

1. Al-Solaiman Y, Estrada E, Allon M. The spectrum of infections in catheter-dependent hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(9):2247-52.
2. Suzuki M, Satoh N, Nakamura M, Horita S, Seki G, Moriya K. Bacteremia in hemodialysis patients. *World J Nephrol*. 2016;5(6):489-96.
3. Lu PL, Tsai JC, Chiu YW, Chang FY, Chen YW, Hsiao CF, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, infection and transmission in dialysis patients, healthcare workers and their family members. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(5):1659-65.
4. Safdar N, Bradley EA. The risk of infection after nasal colonization with *Staphylococcus aureus*. *Am J Med*. 2008;121(4):310-5.
5. Calfee DP. Multidrug-resistant organisms in dialysis patients. *Semin Dial*. 2013;26(4):447-56.
6. Bar-Yoseph H, Hussein K, Braun E, Paul M. Natural history and decolonization strategies for ESBL/carbapenem-resistant Enterobacteriaceae carriage: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(10):2729-39.
7. Saxena AK, Panhotra BR, Venkateshappa CK, Sundaram DS, Naguib M, Uzzaman W, et al. The impact of nasal carriage of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MRSA & MSSA) on vascular access-related septicemia among patients with type-II diabetes on dialysis. *Ren Fail*. 2002;24(6):763-77.
8. Yeoh LY, Tan FL, Willis GC, Ooi ST. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in hospitalized chronic hemodialysis patients and its predisposing factors. *Hemodial Int*. 2014;18(1):142-7.
9. Lai CF, Liao CH, Pai MF, Chu FY, Hsu SP, Chen HY, et al. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is associated with higher all-cause mortality in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(1):167-74.
10. Patel G, Jenkins SG, Mediavilla JR, Kreiswirth BN, Radbill B, Salgado CD, et al. Clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients in an ambulatory hemodialysis center. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32(9):881-8.
11. Field N, Cohen T, Struelens MJ, Palm D, Cookson B, Glynn JR, et al. Strengthening the Reporting of Molecular Epidemiology for Infectious Diseases (STROME-ID): an extension of the STROBE statement. *Lancet Infect Dis*. 2014;14(4):341-52.
12. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008;36(5):309-32.
13. Bloodstream Infection Event (Central Line-Associated Bloodstream Infection and Non-central Line Associated Bloodstream Infection). CDC, January, 2018.

14. Naomi P. O, Grady, M.D. , Mary Alexander, R.N, et al. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections, 2011. CDC, 2011.
15. Vandecasteele SJ, Boelaert JR, De Vriese AS. Staphylococcus aureus infections in hemodialysis: what a nephrologist should know. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(8):1388-400.
16. Schmid H, Romanos A, Schiffl H, Lederer SR. Persistent nasal methicillin-resistant staphylococcus aureus carriage in hemodialysis outpatients: a predictor of worse outcome. *BMC Nephrol*. 2013;14:93.
17. Fysaraki M, Samonis G, Valachis A, Daphnis E, Karageorgopoulos DE, Falagas ME, et al. Incidence, clinical, microbiological features and outcome of bloodstream infections in patients undergoing hemodialysis. *Int J Med Sci*. 2013;10(12):1632-8.
18. Fram D, Okuno MF, Taminato M, Ponzio V, Manfredi SR, Grothe C, et al. Risk factors for bloodstream infection in patients at a Brazilian hemodialysis center: a case-control study. *BMC Infect Dis*. 2015;15:158.
19. Karanika S, Zervou FN, Zacharioudakis IM, Paudel S, Mylonakis E. Risk factors for methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonization in dialysis patients: a meta-analysis. *J Hosp Infect*. 2015;91(3):257-63.
20. Skov Dalgaard L, Nørgaard M, Jespersen B, Jensen-Fangel S, Østergaard LJ, Schönheyder HC, et al. Risk and Prognosis of Bloodstream Infections among Patients on Chronic Hemodialysis: A Population-Based Cohort Study. *PLoS One*. 2015;10(4):e0124547.
21. Pop-Vicas A, Strom J, Stanley K, D'Agata EM. Multidrug-resistant gram-negative bacteria among patients who require chronic hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(3):752-8.
22. Wang CY, Wu VC, Wang WJ, Lin YF, Lin YH, Chen YM, et al. Risk factors for nasal carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among patients with end-stage renal disease in Taiwan. *J Formos Med Assoc*. 2012;111(1):14-8.
23. Robicsek A, Beaumont JL, Wright MO, Thomson RB, Kaul KL, Peterson LR. Electronic prediction rules for methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32(1):9-19.
24. CLSI. 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28nd informational supplement . CLSI document M100-S28 . Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. .
25. Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. *J Clin Microbiol*. 1992;30(7):1654-60.
26. Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, et al. Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(1):264-74.
27. Dallenne C, Da Costa A, Decré D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(3):490-5.

28. Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, et al. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol.* 2001;39(10):3481-5.
29. Shopsis B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol.* 1999;37(11):3556-63.
30. Mathema B, Mediavilla J, Kreiswirth BN. Sequence analysis of the variable number tandem repeat in *Staphylococcus aureus* protein A gene: spa typing. *Methods Mol Biol.* 2008;431:285-305.
31. da Silva Dias RC, Borges-Neto AA, D'Almeida Ferraiuoli GI, de-Oliveira MP, Riley LW, Moreira BM. Prevalence of AmpC and other beta-lactamases in enterobacteria at a large urban university hospital in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;60(1):79-87.
32. Sakr A, Brégeon F, Mège JL, Rolain JM, Blin O. Nasal Colonization: An Update on Mechanisms, Epidemiology, Risk Factors, and Subsequent Infections. *Front Microbiol.* 2018;9:2419.
33. Maamoun HA, Soliman AR, El Sherif R. Carriage of *Staphylococcus aureus* in the nose of patients on regular dialysis treatment using hemodialysis catheters. *Hemodial Int.* 2011;15(4):563-7.
34. Zacharioudakis IM, Zervou FN, Ziakas PD, Mylonakis E. Meta-analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and risk of infection in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(9):2131-41.
35. Gebreselassie HM, Lo Priore E, Marschall J. Effectiveness of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* decolonization in long-term haemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *J Hosp Infect.* 2015;91(3):250-6.
36. Nair R, Perencevich EN, Blevins AE, Goto M, Nelson RE, Schweizer ML. Clinical Effectiveness of Mupirocin for Preventing *Staphylococcus aureus* Infections in Nonsurgical Settings: A Meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2016;62(5):618-30.
37. Piraino B. *Staphylococcus aureus* infections in dialysis patients: focus on prevention. *Asaio j.* 2000;46(6):S13-7.
38. Price A, Sarween N, Gupta I, Baharani J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* screening in a cohort of haemodialysis patients: carriage, demographics and outcomes. *J Hosp Infect.* 2015;90(1):22-7.
39. Verhoeven PO, Gagnaire J, Haddar CH, Grattard F, Thibaudin D, Afiani A, et al. Identifying Hemodialysis Patients With the Highest Risk of *Staphylococcus aureus* Endogenous Infection Through a Simple Nasal Sampling Algorithm. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(14):e3231.



40. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31(4).
41. Chaudry MS, Gislason GH, Kamper AL, Rix M, Larsen AR, Petersen A, et al. Increased risk of *Staphylococcus aureus* bacteremia in hemodialysis-A nationwide study. *Hemodial Int.* 2019;23(2):230-8.
42. Kumbar L, Yee J. Current Concepts in Hemodialysis Vascular Access Infections. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2019;26(1):16-22.
43. Tseng WP, Chen YC, Chen SY, Chang SC. Risk for subsequent infection and mortality after hospitalization among patients with multidrug-resistant gram-negative bacteria colonization or infection. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2018;7:93.

## TABLES

**Table 1.** Clinical characteristics in hemodialysis patients using time-dependent and Poisson analysis

Characteristic	Time-updated colonization			Poisson analysis		
	HR	95% CI		IRR	95% CI	
Age	0.99	0.98	1.01	0.99	0.97	1.00
Ward (reference ward 1)						
2	1.25	0.49	3.17	0.98	0.36	2.66
3	2.23	0.97	5.13	1.51	0.66	3.47
4	0.96	0.46	2.56	0.74	0.26	2.05
B	1.58	0.33	7.42	1.33	0.28	6.40
C	4.05	1.21	13.49	4.25	1.35	13.38
Comorbidities:						
Malignant tumor	0.72	0.16	2.98	1.39	0.39	4.93
Haematological malignancy / lymphoma	0.44	0.06	3.20	0.31	0.05	1.92
Chronic obstructive pulmonary disease	1.50	0.64	3.53	1.13	0.51	2.51
Diabetes	1.02	0.59	1.78	1.04	0.58	1.84
Heart failure	1.36	0.74	2.49	1.39	0.72	2.69
Coronary heart disease	0.75	0.35	1.60	0.94	0.43	2.05
Connective tissue disease	1.56	0.56	4.36	1.39	0.48	4.03
Charlson index	0.98	0.86	1.11	1.02	0.87	1.18
Karfnosky index <70	1.14	0.63	2.06	1.00	0.98	1.03
Temporal catheter	1.12	0.40	3.12	0.78	0.29	2.15
Femoral catheter	3.66	1.71	7.82	3.69	1.86	7.35
Time on dialysis (months)	1.01	1.00	1.01	1.00	1.00	1.01
Catheter time (months)	1.00	0.98	1.02	1.00	0.99	1.00
Previous hospitalization	1.48	0.81	2.67	2.25	1.25	4.03
Immunosuppressive conditions	0.76	0.32	1.78	0.66	0.26	1.63

Frequent itching around the catheter	1.17	0.63	2.16	1.72	0.93	3.19
Moistening the catheter frequently	2.21	1.15	4.23	2.10	1.08	4.05
Use of antibiotics (the last 6 months)	1.16	0.65	2.06	1.38	0.78	2.44
Penicilin	0.71	0.25	1.98	0.86	0.28	2.65
Aminoglycosides	2.07	1.01	4.24	2.23	1.12	4.39
Third-generation cephalosporin	2.66	0.80	8.80	1.81	0.69	4.77
Glycopeptides	1.75	0.89	3.43	1.85	0.96	3.56
Albumin	0.84	0.47	1.49	0.93	0.39	2.22
Hemoglobin	0.95	0.82	1.10	0.95	0.81	1.11
Intradialysis iron	0.45	0.18	1.12	0.85	0.35	2.07
Change to fistula during the follow-up	0.17	0.06	0.48	0.19	0.06	0.53
Interaction time on dialysis*age	0.99	0.99	1.00	1.03	1.03	1.04
Interaction time on dialysis*Charlson index	1.0	0.99	1.00	1.00	0.99	1.00

**Table 2.** Univariate analysis of *S. aureus* and ESBL-GNB colonization and risk of bacteremia in hemodialysis patients

Bacteremia type	Colonization	Baseline colonization			Time-updated colonization			Poisson model		
		HR	95% CI		HR	95% CI		IRR	95% CI	
Bacteremia by any bacteria	<i>S. aureus</i>	0.88	0.49	1.59	1.39	0.79	2.46	2.06	1.19	3.58
	ESBL-GNB	1.48	0.73	2.99	1.78	0.86	3.69	1.64	0.75	3.58
<i>S. aureus</i> bacteremia	<i>S. aureus</i>	1.70	0.72	4.00	4.93	1.89	12.88	6.37	2.68	15.16

**Table 3.** Multivariate analysis of *S. aureus* and ESBL-GNB colonization and risk of bacteremia in hemodialysis patients

Bacteremia type	Colonization	Model	Time-updated colonization				Poisson model			
			HR	95% CI		AIC	IRR	95% CI		AIC
Bacteremia by any bacteria	<i>S. aureus</i>	Model 1 <sup>a</sup>	1.41	0.70	2.50	509.66	2.02	1.17	3.50	589.53
		Model 2 <sup>b</sup>	1.42	0.80	2.50	485.96	1.84	1.06	3.22	561.76
		Model 3 <sup>c</sup>	1.61	0.86	3.02	399.33	1.92	0.99	3.71	457.92
	ESBL-GNB	Model 1 <sup>a</sup>	1.82	0.87	3.78	278.05	1.71	0.78	3.75	363.69
		Model 2 <sup>b</sup>	1.61	0.76	3.40	259.96	1.43	0.66	3.11	340.45
		Model 3 <sup>c</sup>	1.19	0.53	2.66	219.03	1.36	0.59	3.10	272.67
<i>S. aureus</i> bacteremia	<i>S. aureus</i>	Model 1 <sup>a</sup>	4.98	1.89	13.11	194.13	6.46	2.76	15.08	265.00
		Model 2 <sup>d</sup>	4.97	1.90	12.98	172.95	6.38	2.68	15.16	264.27
		Model 3 <sup>e</sup>	4.84	1.85	12.61	189.33	6.18	2.60	14.66	258.71
		Model 4 <sup>f</sup>	4.64	1.72	12.53	165.50	5.90	2.29	15.16	218.13

<sup>a</sup> Adjusted: age, sex

<sup>b</sup> Adjusted: Charlson index, femoral catheter, change to fistula

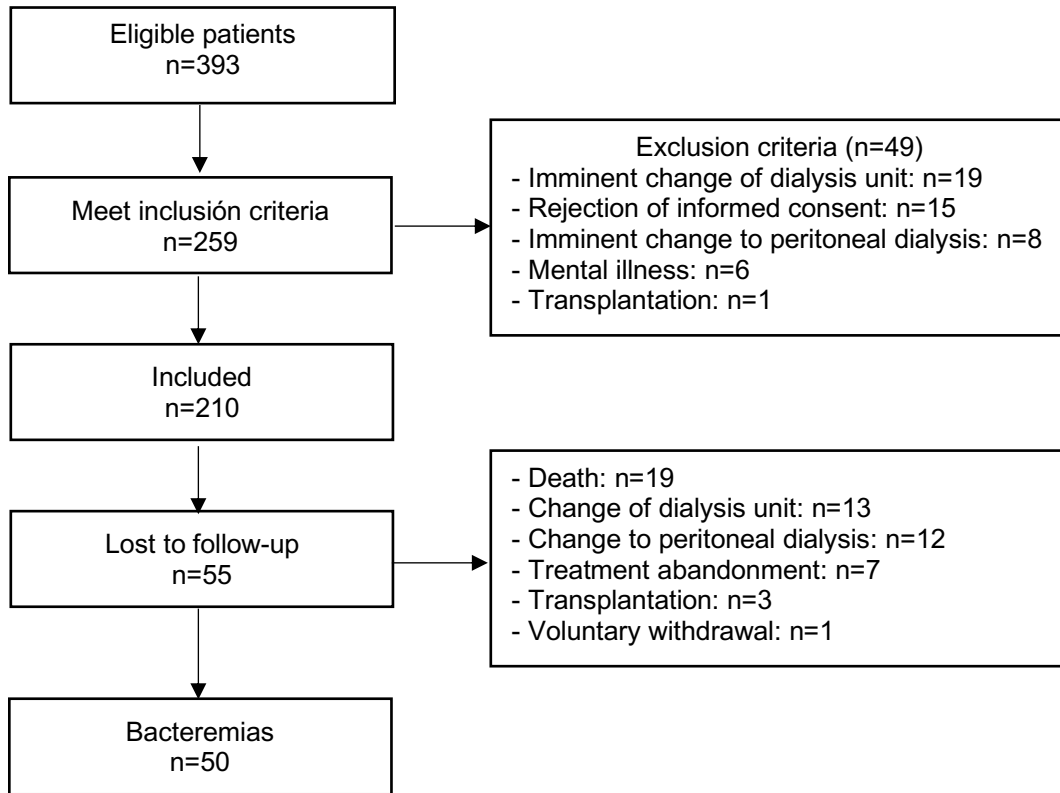
<sup>c</sup> Adjusted: Charlson index, time on hemodialysis, femoral catheter, albumin

<sup>d</sup> Adjusted: time on hemodialysis

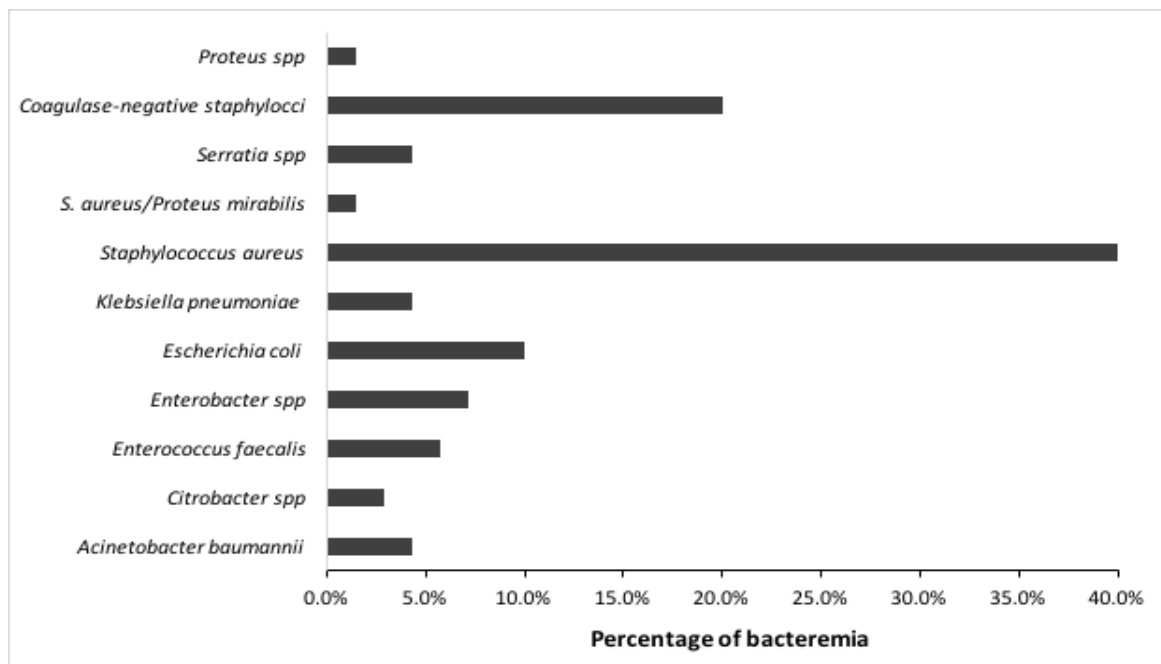
<sup>e</sup> Adjusted: Charlson index, change to fistula

<sup>f</sup> Adjusted: femoral catheter, albumin

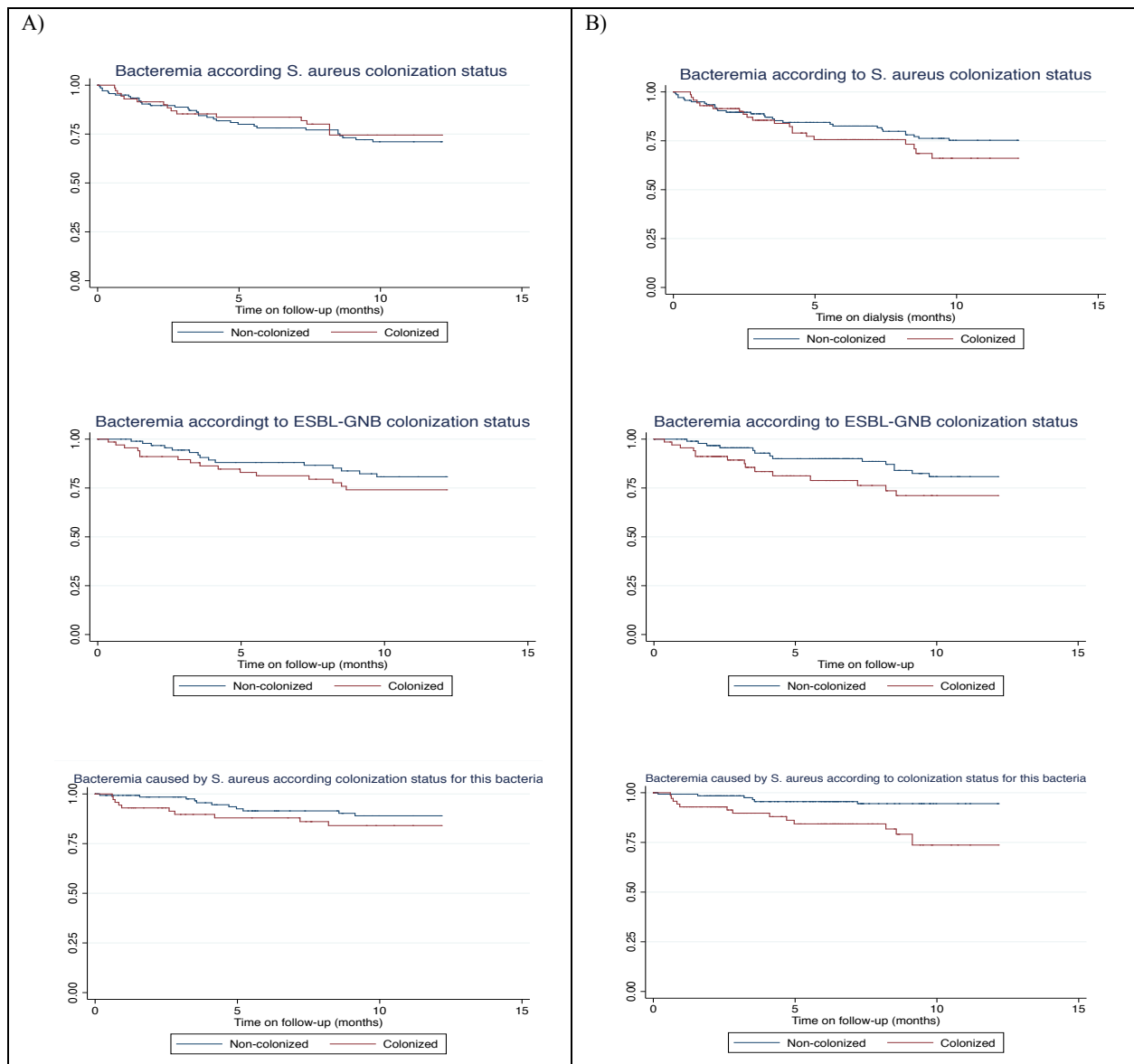
## FIGURES



**Figure 1.** Flowchart illustrating inclusion of patients and follow-up

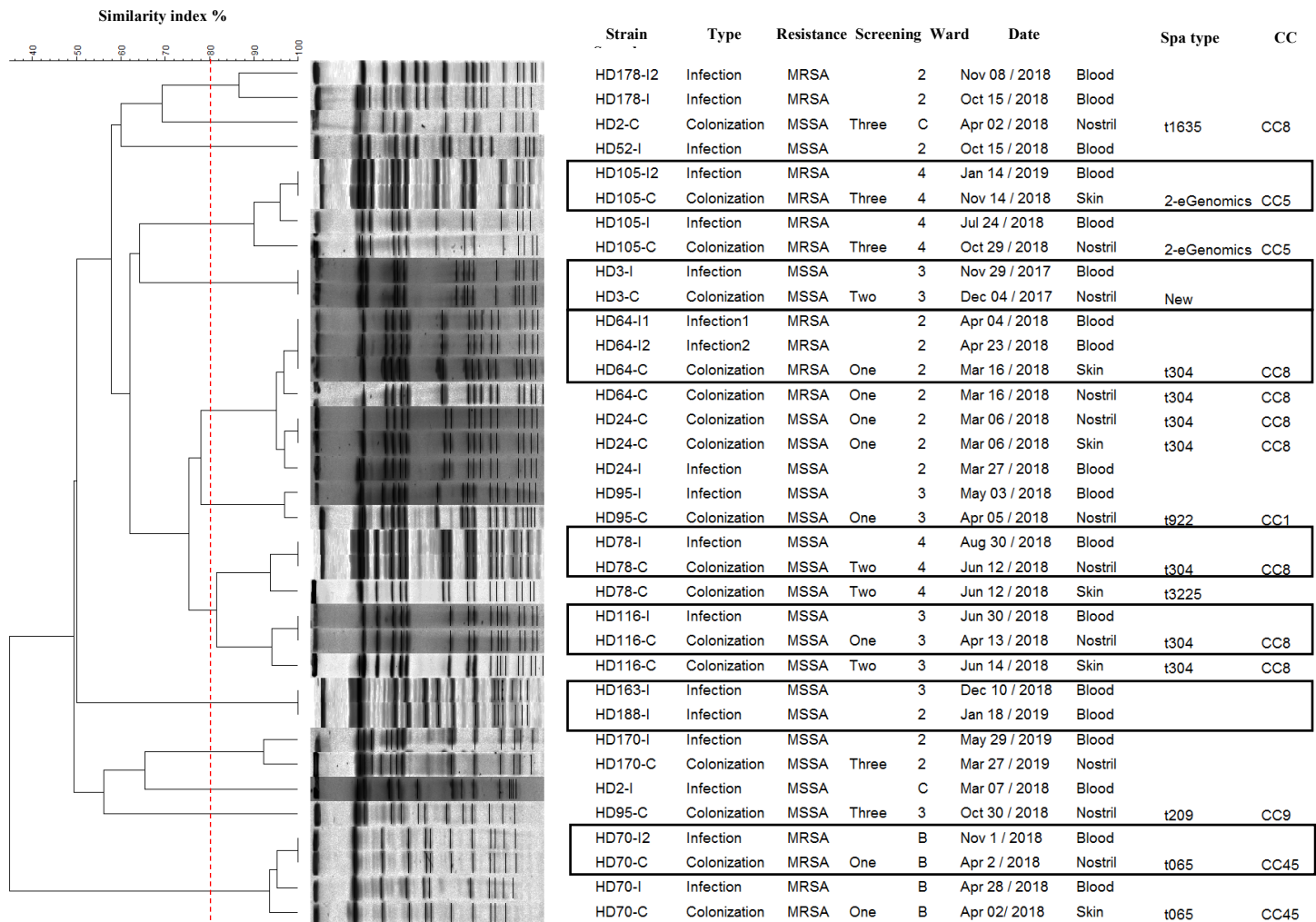


**Figure 2.** Bacteria isolated from blood cultures in hemodialysis patients



**Figure 3.** Kaplan-Meier curves for estimation of percentages remaining bacteremia-free at different times from baseline. A) Baseline colonization. B) Time-updated colonization





**Figure 4.** Genetic relatedness isolates colonizing and causing bacteremia in hemodialysis infection. The broken line corresponds to the cutoff level (80%) used to define PFGE clones as related. Boxes indicate isolates with indistinguishable genetic profiles

## 8. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES FINALES

Los pacientes en hemodiálisis constituyen una de las poblaciones más susceptibles al desarrollo de infecciones invasivas como bacteriemia; aún más en nuestro contexto local, en donde el uso de la fístula no ha sido una práctica generalizada debido a que la mayoría de los pacientes se rehúsan a utilizarla por motivos estéticos o por experiencias negativas propias o de otros pacientes. Este trabajo fue una de las primeras aproximaciones en el país para identificar el comportamiento de la colonización, sus factores asociados y su efecto en el desarrollo de bacteriemia en los pacientes en hemodiálisis. Así mismo, los resultados evidencian la presencia de bacterias resistentes a betalactámicos en una población que circula no solo en instituciones de atención en salud, sino en la comunidad, en un país endémico para la presencia de estos microorganismos como lo es Colombia.

De acuerdo con los objetivos planteados, las conclusiones de esta investigación pueden ser resumidas en los siguientes puntos:

- La alta frecuencia de colonización por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos: Este hallazgo es importante porque el conocimiento sobre la frecuencia de la colonización por estos microorganismos era limitado en los pacientes en hemodiálisis. Los resultados de este estudio evidenciaron que la colonización por bacilos Gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido fue más frecuente que la colonización por *S. aureus*. Así mismo, la colonización por bacterias resistentes a carbapenémicos fue más común que la colonización por aislados de *S. aureus* resistentes a metilicina. Lo anterior sumado a la alta diversidad genética de éstos microorganismos, sugiere una presión de uso de antibióticos lo cual favorece la selección y diseminación de bacterias resistentes, además plantea la adquisición de estos microorganismos en diferentes ambientes y no solo el hospitalario. Se requiere además mayor educación para pacientes y familiares en torno a evitar la autoprescripción de antimicrobianos, y mayor sensibilización hacia el personal médico y paramédico en torno al buen uso de antibióticos en esta población de pacientes; incluyendo los riesgos de la sobreprescripción, subdosificación y excesos en la duración de las terapias antimicrobianas.

- El comportamiento dinámico de la colonización a través del tiempo: Este estudio mostró que la colonización por *S. aureus* y por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos es una condición que cambia en el tiempo, por lo que la mayoría de los pacientes son colonizados de manera intermitente. Así mismo, la adquisición de nuevos clones bacterianos puede presentarse hasta en la tercera parte de los pacientes clasificados como portadores persistentes por métodos fenotípicos. Este comportamiento dinámico evidencia la necesidad de vigilar de manera permanente la colonización no solo por *S. aureus*, sino por bacilos Gram negativos resistentes a cefalosporinas de tercera generación y a carbapenémicos. Así mismo, se confirmó por métodos moleculares que la diseminación horizontal (paciente-paciente) de los aislados colonizantes no se daba en la unidad renal; lo que sugiere fuentes adicionales de transmisión como el ambiente residencial, en donde los convivientes, las superficies y las mascotas pueden ser reservorios de estos microorganismos. Adicionalmente, es importante considerar factores relacionados con hábitos y comportamientos de los pacientes como el tabaquismo, que pueden incrementar el riesgo de colonización. Todo esto implica mayor insistencia hacia pacientes y familiares en cuanto a hábitos de higiene adecuada: la adecuada higiene de manos y la limpieza en el hogar.
- La colonización por *S. aureus* aumenta el riesgo de bacteriemia causada por esta misma bacteria: Lo anterior se observó no solo con el tiempo hasta la primera bacteriemia, sino con la recurrencia de esta infección. Este hallazgo es de importancia porque los pacientes colonizados que presentan bacteriemias recurrentes pueden ser intervenidos de manera profiláctica para evitar el desarrollo de estas infecciones. El uso de mupirocina ha sido avalado en diversos estudios y recomendado en diferentes guías internacionales e incluso nacionales, sin embargo, la utilización masiva puede llevar a la aparición de resistencia, tal como se ha visto en otros países; de allí la necesidad de identificar a los pacientes colonizados y de alto riesgo, quienes son los que más se beneficiarían de la intervención. La mayoría de las bacteriemias fueron causadas por aislados sensibles a meticilina por lo que los protocolos de descolonización deberían incluir tanto a los aislados sensibles como resistentes. Estos protocolos deben estar además acompañados de campañas de higiene de manos, uso concomitante de clorhexidina y estrategias de sensibilización en el manejo adecuado del catéter por el personal de atención en la unidad renal, así como del cuidado del mismo por parte del paciente. Humedecerlo de manera frecuente fue uno de los factores que favoreció el desarrollo de bacteriemia.

Así mismo, los pacientes que cambiaron a fístula tuvieron menor riesgo de infección; justificando la necesidad de fortalecer la orientación a los pacientes que continúan con catéter para que realicen el cambio a este acceso vascular.

- La colonización por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos no estuvo asociada con el desarrollo de bacteriemia: Si bien la colonización por estos microorganismos no se asoció con infección, su importancia epidemiológica radica en el alto porcentaje de colonización; por lo que los pacientes actúan como reservorios de bacterias resistentes y pueden transmitirlos dentro y fuera de la unidad renal. En este sentido, las estrategias en la unidad renal deben ir orientadas en prevenir la diseminación de estos microorganismos, más que en evitar el desarrollo de infecciones endógenas.
- La necesidad de hospitalización en la mayoría de los pacientes infectados: El 81.7% de los pacientes con bacteriemia requirieron hospitalización, con una mediana de 15 días de estancia hospitalaria. Así mismo, 4 pacientes fallecieron durante este periodo, 3 de los cuales presentaron infecciones por *S. aureus* sensible a meticilina. Lo anterior resalta la importancia de considerar los aislados sensibles a meticilina en los protocolos de descolonización, porque la mayoría de bacteriemias fueron causadas por estos microorganismos y el riesgo de complicaciones con pronósticos no favorables puede ser mayor.
- La utilidad de los métodos moleculares en los estudios epidemiológicos: La utilización de métodos de tipificación molecular en este estudio permitieron el conocimiento sobre la diseminación de bacterias colonizantes, la re-colonización por nuevos clones a través de tiempo y la confirmación de que el aislado que colonizaba era el mismo que estaba causando infección. Así mismo, se observó la circulación de clones exitosos por portar mecanismos de resistencia y que han sido diseminados a nivel mundial, como lo son el CC8 en el caso de *S. aureus* y el ST131 en el caso de *E. coli* productora de betalactamasas de espectro extendido.

Como limitaciones del estudio, se encuentra la no inclusión de otras unidades de renales de la ciudad que permitan una mayor validez externa del estudio. Sin embargo, la unidad incluida corresponde a una de las más grandes de la ciudad y atiende a población heterogénea de diversos aseguradores, tanto de los regímenes subsidiado como contributivo, y de todos los estratos socioeconómicos que es representativa de los pacientes que reciben hemodiálisis. Por otro lado, la falta de evaluación del estado de colonización

en el personal de atención y la búsqueda de los microorganismos evaluados en superficies como las sillas de diálisis y en el ambiente residencial, hubiera permitido una mayor comprensión de la transmisión de las bacterias que colonizaban y causaban bacteriemia. No obstante, los métodos moleculares aportaron información suficiente para responder los objetivos planteados en este estudio.

Finalmente, en este estudio se resalta la importancia de evaluar la circulación de bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos en poblaciones susceptibles de desarrollar infecciones invasivas, como lo son los pacientes en hemodiálisis. Microorganismos resistentes, diferentes a *S. aureus*, circulan de manera frecuente en hospitales y en la comunidad y por lo tanto deben ser considerados. Así mismo, es importante incluir en los análisis epidemiológicos, la naturaleza dependiente del tiempo que pueden tener exposiciones como la colonización y la recurrencia de los desenlaces de interés. Esto aumenta la precisión de los análisis y refleja de manera más certera las asociaciones evaluadas, debido a que la mayoría de eventos en el proceso salud-enfermedad no son fijos en el tiempo. Dada esta complejidad, la epidemiología debe apoyarse además en herramientas adicionales, como lo son los métodos moleculares, para una mayor comprensión del comportamiento y de los factores asociados con los eventos de interés.

## 9. RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

### 9.1. Recomendaciones

- Los resultados obtenidos en esta investigación resaltan la importancia de evaluar la colonización por bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos en las unidades renales. Si bien *S. aureus* es la bacteria que coloniza y causa infección con mayor frecuencia en los pacientes en hemodiálisis, el alto porcentaje de colonización por bacilos Gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido y resistentes a carbapenémicos, señala la necesidad de incluir estos microorganismos en los protocolos de control de infecciones, con el fin de evitar su diseminación y el potencial riesgo de infecciones con opciones limitadas de tratamiento.
- El comportamiento cambiante de colonización señala la importancia de evaluarla de manera permanente, debido a que una sola observación podría subestimar el número de pacientes colonizados.
- En contraste con los bacilos Gram negativos resistentes a betalactámicos, *S. aureus* fue una causa de infección endógena en los pacientes en hemodiálisis. Lo anterior, señala la necesidad de identificar pacientes colonizados con bacteriemia persistente quienes puedan ser intervenidos de manera profiláctica para evitar la recurrencia de infecciones. La descolonización podría ser considerada de manera selectiva y en pacientes colonizados con infecciones recurrentes con el fin de evitar la diseminación de mecanismos de resistencia a antibióticos como mupirocina.
- Los métodos moleculares evidenciaron que la diseminación horizontal (paciente-paciente) de *S. aureus* y bacilos Gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido, no fue común en la unidad renal. Sin embargo, esta diseminación fue observada en algunos pacientes, lo que señala la importancia de fortalecer las estrategias de control de infecciones como la higiene de manos y la adherencia a los protocolos sobre el manejo de catéter.
- La recolonización por nuevas cepas resistentes a betalactámicos sumado a la alta diversidad genética de los aislados colonizantes, sugiere el contacto con diferentes fuentes de colonización y el uso exagerado de antibióticos y, por tanto, la necesidad de educar al paciente y a su familia en la

prevención de la colonización y el desarrollo de infecciones en el ambiente residencial y sobre el uso racional de estos medicamentos.

## 9.2. Perspectivas

Los resultados obtenidos en este trabajo sientan las bases para la realización de estudios posteriores que permitan una mayor comprensión de la colonización y el desarrollo de infecciones invasivas como bacteriemia, así como su control y prevención:

- El alto riesgo de bacteriemia en los pacientes colonizados por *S. aureus*, lleva a la necesidad de evaluar la eficacia de estrategias de descolonización con mupirocina y clorhexidina en los pacientes con mayor riesgo de recurrencias o con accesos vasculares limitados. Lo anterior podrá ser realizado en ensayos clínicos aleatorizados, en los que además se pueda evaluar la costo-efectividad de estas intervenciones, con el fin de justificar la distribución de recursos en estas estrategias y por lo tanto la reducción de infecciones invasivas y sus implicaciones para los pacientes en hemodiálisis. Debe tenerse en cuenta que en la actualidad la mupirocina no hace parte del plan de beneficios de salud en Colombia e incluso no tiene indicación aprobada por INVIMA para uso profiláctico (solo terapéutico), a pesar de la evidencia relevante apoyando su uso. Los resultados de este estudio aportan conocimiento para incluir esta terapia dentro de las indicaciones del sistema de salud colombiano o incluso llevar a su inclusión en los planes obligatorios de beneficios.
- La alta diversidad genética encontrada en los pacientes colonizados señala la importancia de la realización de estudios en sus hogares. La tamización de la colonización en convivientes residenciales y mascotas podrán sugerir patrones de transmisión que pueden ser abordados por métodos moleculares como secuenciación de genoma completo, con el fin de confirmar si la transmisión de bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos se está dando desde los pacientes hacia su hogar o en sentido contrario. Esto permitirá una aproximación a la diseminación de estos microorganismos en la comunidad, un campo poco explorado en nuestro medio y que en el futuro podrá ser uno de los blancos de intervención dada la rápida diseminación de estos microorganismos; más aun considerando que la colonización es más frecuente que la infección.
- Finalmente, la presencia de bacilos Gram negativos de diferentes especies portando betalactamasas de espectro extendido en un mismo paciente, sugiere la presencia de elementos genéticos móviles

como plásmidos que permiten la diseminación de mecanismos de resistencia de una bacteria a otra. Esto puede ocurrir en el intestino, el cual ha sido considerado como un órgano en el que se de manera exitosa la transferencia genética. Lo anterior, podrá ser evaluado por ensayos de conjugación para la identificación de los plásmidos que portan estos mecanismos de resistencia y confirmar cuáles de éstos son los encargados de la diseminación de betalactamasas a nivel intestinal. Además, plantea la posibilidad de plantear estrategias de modificación de microbiota intestinal como descolonización, trasplante de materia fecal o probióticos, que pueden evitar infecciones por bacterias resistentes en esta población.



## 10. ARTÍCULOS DERIVADOS DEL TRABAJO DE TESIS

### Artículos publicados

- Vanegas JM, Jiménez JN. Colonization and risk of infection by multidrug-resistant bacteria in hemodialysis patients: a topic of concern. *Infectio* 2019; 23:205-211
- Vanegas JM, Jiménez JN. Resistencia antimicrobiana en el siglo XXI: ¿hacia una era postantibiótica? *Rev Fac Nac Salud Pública* 2020. 38 (1)

### Artículos sometidos

- High frequency of colonization by diverse clones of beta-lactam resistant Gram-negative bacilli in hemodialysis: different sources of transmission outside the renal unit? Sometido: *Journal of Medical Microbiology*
- Follow-up of patients on hemodialysis shows intermittent colonization by *Staphylococcus aureus* with a high genetic diversity: the need for permanent surveillance. Sometido: *PLoS One*
- High intermittent colonization by diverse clones of ESBL-producing Gram-negative bacilli suggests an excessive antibiotic use and different sources of transmission in hemodialysis patients. Sometido: *International Journal of Antimicrobial Agents*
- Colonization by *Staphylococcus aureus* increases the risk of bacteremia in hemodialysis patients: a time-dependent analysis and molecular epidemiology. Sometido: *American Journal of Infection Control*
- Post-antibiotic era in hemodialysis patients?: Two case reports. Sometido: *Hemodialysis International*
- Alta sensibilidad a mupirocina en aislados de *Staphylococcus aureus* colonizando pacientes en hemodiálisis: un estudio descriptivo en una unidad renal de Medellín. Sometido: *Iatreia*

## 11. PRESENTACIONES EN EVENTOS CIENTÍFICOS Y OTROS

### Presentación en eventos científicos internacionales

- Salazar L, Vanegas JM, Roncancio G, Jiménez JN. Predominio de bacilos Gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) colonizando pacientes en hemodiálisis. XVII Congreso latinoamericano de Nefrología e hipertensión. Septiembre 12-15, 2019- Lima, Perú.
- Vanegas JM, Salazar L, Jiménez JN. Colonización por *Staphylococcus aureus* como fuente de infección endógena en pacientes en hemodiálisis: Resultados preliminares de un estudio de cohorte. XVII Congreso latinoamericano de Nefrología e hipertensión. Septiembre 12-15, 2019- Lima, Perú.
- Vanegas JM, Salazar L, Jiménez JN. Colonization by Extended-Spectrum-Betalactamases-Producing Gram-Negative Bacteria is More Frequent Than Colonization by *S. aureus* in Hemodialysis Patients of an Endemic City. Microbe. Junio 20-24, 2019.. San Francisco, Estados Unidos.

### Presentación en eventos científicos nacionales

- Torres YL, Vélez JG, Vanegas JM, Jiménez JN. Resistencia a mupirocina en aislados de *Staphylococcus aureus* colonizando pacientes en hemodiálisis: un estudio exploratorio en una unidad renal de Medellín. Bogotá Microbial Meeting. Julio 25 y 26, 2019. Bogotá, Colombia.
- Vanegas JM, Salazar L, Jiménez JN. Colonización por *Staphylococcus aureus* y bacteriemia: resultados preliminares en una cohorte de pacientes en hemodiálisis. XI Encuentro Nacional de Investigación en Enfermedades Infecciosas. Agosto 2-4, 2018. Pereira, Colombia
- Salazar L, Vanegas JM, Jiménez JN. Colonización por *Staphylococcus aureus* sensible y resistente a meticilina (SASM-SARM) en una población de alto costo. XI Encuentro Nacional de Investigación en Enfermedades Infecciosas. Agosto 2-4, 2018. Pereira, Colombia
- Montoya D, Vanegas JM, Jiménez JN. Alta frecuencia de colonización por enterobacterias portadoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en una cohorte de pacientes en hemodialisis. XI Encuentro Nacional de Investigación en Enfermedades Infecciosas. Agosto 2-4, 2018. Pereira, Colombia

### **Presentación en eventos locales**

- Presentación de resultados Secretaría de Salud, Alcaldía de Medellín. Abril 02, 2019
- Presentación de resultados Jornadas de Investigación, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Octubre 16, 2019

## 12. ACTIVIDADES DE APROPIACIÓN SOCIAL DEL CONOCIMIENTO

- Evento de educación en salud realizado con los pacientes en hemodiálisis y sus familiares en el museo de la Universidad de Antioquia: La actividad se llevó a cabo los días 25 y 26 de noviembre del año 2019 en el Museo Universitario de la Universidad de Antioquia -MUUA-, con la participación de aproximadamente 120 personas de todas las edades, entre pacientes y sus familiares. El objetivo de la misma, además de socializar los resultados del proyecto, fue agradecer la participación en el mismo y educar sobre la importancia de la colonización bacteriana en el desarrollo de infecciones. Adicionalmente, los asistentes recibieron información con referencia el uso correcto de antibióticos, la higiene adecuada de manos y el cuidado del catéter.
- Participación en el video “Micronotas” de la Escuela de Microbiología con el tema “colonización bacteriana”. Agosto 12, 2019
- Participación en el radio-consultorio de la Escuela de Microbiología con el tema “microbiota”. Mayo 24, 2018

### **13. CURSOS, PASANTÍAS, ENTRENAMIENTOS Y RECONOCMIENTOS**

#### **Cursos extracurriculares**

- Course of Critical reading of epidemiological literature. Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University. Junio, 2019.
- Practical epidemiology and field studies course. Universidad Pontificia Bolivariana. Febrero, 2019
- Fundamentos y avances en epidemiología molecular y evolutiva de infecciones bacterianas. Universidad de Antioquia. Julio- diciembre, 2015

#### **Pasantías**

- Pasantía Epidemiología Molecular: Division of Infectious Diseases and Vaccinology, School of Public Health, University of California, Estados Unidos. Julio, 2019
- Pasantía Análisis de variables dependientes del tiempo: Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University, Estados Unidos. Junio, 2019

#### **Entrenamientos**

- International Infectious Disease & Global Health Training Program. University of Manitoba, Canadá. Desde septiembre 2018-actual

#### **Reconocimientos**

- Reconocimiento dentro de los mejores trabajos en el XVII Congreso Latinoamericano de Nefrología e Hipertensión: Predominio de bacilos Gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) colonizando pacientes en hemodiálisis. Septiembre 12-15, 2019- Lima, Perú.

## 14. REFERENCIAS

1. Calfee DP. Multidrug-resistant organisms in dialysis patients. *Semin Dial.* 2013;26(4):447-56.
2. Simmons B, Larson E. Multiple drug resistant organisms in healthcare: The failure of contact precautions. *Journal of Infection Prevention.* 2015:1-4.
3. Fariñas MC, García-Palomo JD, Gutiérrez-Cuadra M. [Infection associated with hemodialysis and peritoneal dialysis catheters]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(8):518-26.
4. Suzuki M, Satoh N, Nakamura M, Horita S, Seki G, Moriya K. Bacteremia in hemodialysis patients. *World J Nephrol.* 2016;5(6):489-96.
5. World Health Organization. Policy Package to Combat Antimicrobial Resistance 2011 [Available from: <http://bit.ly/hl6rFO>].
6. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2011;35(5):736-55.
7. Neidell MJ, Cohen B, Furuya Y, Hill J, Jeon CY, Glied S, et al. Costs of healthcare- and community-associated infections with antimicrobial-resistant versus antimicrobial-susceptible organisms. *Clin Infect Dis.* 2012;55(6):807-15.
8. Fair RJ, Tor Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspect Medicin Chem.* 2014;6:25-64.
9. World Health Organization. Antimicrobial Resistance. Global Report on Surveillance 2014 [
10. Collignon P, Powers JH, Chiller TM, Aidara-Kane A, Aarestrup FM. World Health Organization ranking of antimicrobials according to their importance in human medicine: A critical step for developing risk management strategies for the use of antimicrobials in food production animals. *Clin Infect Dis.* 2009;49(1):132-41.
11. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. Centers for Disease Control and Prevention. [Fecha de acceso: 20 de abril de 2015]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>.
12. Snyder GM, D'Agata EM. Novel antimicrobial-resistant bacteria among patients requiring chronic hemodialysis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012;21(2):211-5.
13. Lu PL, Tsai JC, Chiu YW, Chang FY, Chen YW, Hsiao CF, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, infection and transmission in dialysis patients, healthcare workers and their family members. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(5):1659-65.
14. Pop-Vicas A, Strom J, Stanley K, D'Agata EM. Multidrug-resistant gram-negative bacteria among patients who require chronic hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(3):752-8.
15. Patel G, Jenkins SG, Mediavilla JR, Kreiswirth BN, Radbill B, Salgado CD, et al. Clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients in an ambulatory hemodialysis center. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011;32(9):881-8.
16. Ziakas PD, Pliakos EE, Zervou FN, Knoll BM, Rice LB, Mylonakis E. MRSA and VRE colonization in solid organ transplantation: a meta-analysis of published studies. *Am J Transplant.* 2014;14(8):1887-94.
17. Bert F, Larroque B, Dondero F, Durand F, Paugam-Burtz C, Belghiti J, et al. Risk factors associated with preoperative fecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in liver transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2014;16(1):84-9.

18. Lübbert C, Rodloff AC, Laudi S, Simon P, Busch T, Mössner J, et al. Lessons learned from excess mortality associated with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2014;20(6):736-8.
19. Mouloudi E, Massa E, Papadopoulos S, Iosifidis E, Roilides I, Theodoridou T, et al. Bloodstream infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* among intensive care unit patients after orthotopic liver transplantation: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Transplant Proc*. 2014;46(9):3216-8.
20. Lübbert C, Lippmann N, Busch T, Kaisers UX, Ducombe T, Eckmanns T, et al. Long-term carriage of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-2-producing *K pneumoniae* after a large single-center outbreak in Germany. *Am J Infect Control*. 2014;42(4):376-80.
21. Villar HE, Baserni MN, Jugo MB. Faecal carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae and carbapenem-resistant Gram-negative bacilli in community settings. *J Infect Dev Ctries*. 2013;7(8):630-4.
22. Rao A, Kallen A, Horan T, Patel P: Microbiologic characteristics of dialysis and bloodstream infections: National Healthcare Safety Network, 2007–2009. 48th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. Canada: Vancouver, 2010. Abstract 393.
23. Centers for Disease Control and Prevention: Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among dialysis patients-United States, 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rpt* 56:197–199, 2007.
24. Chaudry MS, Gislason GH, Kamper AL, Rix M, Larsen AR, Petersen A, et al. Increased risk of *Staphylococcus aureus* bacteremia in hemodialysis-A nationwide study. *Hemodial Int*. 2019;23(2):230-8.
25. Uhlemann AC, Knox J, Miller M, Hafer C, Vasquez G, Ryan M, et al. The environment as an unrecognized reservoir for community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* USA300: a case-control study. *PLoS One*. 2011;6(7):e22407.
26. Cluzet VC, Gerber JS, Nachamkin I, Metlay JP, Zaoutis TE, Davis MF, et al. Risk factors for recurrent colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community-dwelling adults and children. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2015;36(7):786-93.
27. Tuddenham S, Sears CL. The intestinal microbiome and health. *Curr Opin Infect Dis*. 2015;28(5):464-70.
28. Moore C, Davis NF, Burke JP, Power R, Mohan P, Hickey D, et al. Colonisation with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prior to renal transplantation is associated with long-term renal allograft failure. *Transpl Int*. 2014;27(9):926-30.
29. Maldonado NA, Múnera MI, López JA, Sierra P, Robledo C, Robledo J, et al. [Trends in antibiotic resistance in Medellín and municipalities of the Metropolitan Area between 2007 and 2012: Results of six years of surveillance]. *Biomedica*. 2014;34(3):433-46.
30. Vasoo S, Barreto JN, Tosh PK. Emerging issues in gram-negative bacterial resistance: an update for the practicing clinician. *Mayo Clin Proc*. 2015;90(3):395-403.
31. Logan LK. Carbapenem-resistant enterobacteriaceae: an emerging problem in children. *Clin Infect Dis*. 2012;55(6):852-9.
32. Plotkin SA, Starr SE, Friedman HM, Brayman K, Harris S, Jackson S, et al. Effect of Towne live virus vaccine on cytomegalovirus disease after renal transplant. A controlled trial. *Ann Intern Med*. 1991;114(7):525-31.
33. Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis*. 2005;41(6):848-54.

34. Biendo M, Manoliu C, Laurans G, Castelain S, Canarelli B, Thomas D, et al. Molecular typing and characterization of extended-spectrum TEM, SHV and CTX-M beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae*. *Res Microbiol*. 2008;159(9-10):590-4.
35. Trevino M, Moldes L, Martinez-Lamas L, Varon C, Regueiro BJ. Carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* and the emergence of metallo-beta-lactamase-producing strains in a third-level hospital (Santiago de Compostela, NW Spain). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28(10):1253-8.
36. Santoro-Lopes G, de Gouvêa EF. Multidrug-resistant bacterial infections after liver transplantation: an ever-growing challenge. *World J Gastroenterol*. 2014;20(20):6201-10.
37. Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med*. 2012;27(2):128-42.
38. Carlet J. The gut is the epicentre of antibiotic resistance. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2012;1(1):39.
39. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(4):1553-5.
40. Hernández C, Blanco V, Motoa G, Correa A, Maya JJ, de la Cadena E, et al. Evolución de la resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Biomédica*. 2014;34(Supl. 1):91-100.
41. Safdar N, Bradley EA. The risk of infection after nasal colonization with *Staphylococcus aureus*. *Am J Med*. 2008;121(4):310-5.
42. Price A, Sarween N, Gupta I, Baharani J. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* and meticillin-susceptible *Staphylococcus aureus* screening in a cohort of haemodialysis patients: carriage, demographics and outcomes. *J Hosp Infect*. 2015;90(1):22-7.
43. Fernandez-Cuenca F. [Applications of PCR techniques for molecular epidemiology of infectious diseases]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22(6):355-60.
44. Field N, Cohen T, Struelens MJ, Palm D, Cookson B, Glynn JR, et al. Strengthening the Reporting of Molecular Epidemiology for Infectious Diseases (STROME-ID): an extension of the STROBE statement. *Lancet Infect Dis*. 2014;14(4):341-52.
45. Traub RJ, Monis PT, Robertson ID. Molecular epidemiology: a multidisciplinary approach to understanding parasitic zoonoses. *Int J Parasitol*. 2005;35(11-12):1295-307.
46. Grothe C, Taminato M, Belasco A, Sesso R, Barbosa D. Screening and treatment for *Staphylococcus aureus* in patients undergoing hemodialysis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrol*. 2014;15:202.
47. Guía para el manejo de la enfermedad renal crónica y Modelo de prevención y control de la enfermedad renal crónica. Componente de un modelo de salud renal. Ministerio de la Protección Social -MPS. Programa de Apoyo a la Reforma de Salud -PARS. Fundación para la Investigación y Desarrollo de la Salud y la Seguridad Social. Bogotá, Colombia, Mayo 2007.
48. Martin C, Pillai R. Dialysis Access Anatomy and Interventions: A Primer. *Semin Intervent Radiol*. 2016;33(1):52-5.
49. Eventos de diálisis de la NHSN. Disponible en: [http://www.cdc.gov/nhsn/psc\\_da\\_de.html](http://www.cdc.gov/nhsn/psc_da_de.html).
50. Albuquerque SE, Cavalcante ReS, Ponce D, Fortaleza CM. Epidemiology of healthcare-associated infections among patients from a hemodialysis unit in southeastern Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2014;18(3):327-30.
51. Karopadi AN, Mason G, Rettore E, Ronco C. Cost of peritoneal dialysis and haemodialysis across the world. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(10):2553-69.



52. Mushi L, Marschall P, Fleßa S. The cost of dialysis in low and middle-income countries: a systematic review. *BMC Health Serv Res.* 2015;15:506.
53. Alsmady M, Shahait AD, Alawwa IA, Riziq MG, Abusba AM, Al-Qudah A. Outcome of upper limb vascular access for hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2015;26(6):1210-4.
54. Al-Natour M, Thompson D. Peritoneal Dialysis. *Semin Intervent Radiol.* 2016;33(1):3-5.
55. Tomasz A. The mechanism of the irreversible antimicrobial effects of penicillins: how the beta-lactam antibiotics kill and lyse bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 1979;33:113-37.
56. Tang SS, Apisarnthanarak A, Hsu LY. Mechanisms of  $\beta$ -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Adv Drug Deliv Rev.* 2014;78:3-13.
57. Zaffiri L, Gardner J, Toledo-Pereyra LH. History of antibiotics. From salvarsan to cephalosporins. *J Invest Surg.* 2012;25(2):67-77.
58. Martínez MJ, García MI, Sánchez EG, Sánchez JE. [Available carbapenems: Properties and differences]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;28 Suppl 2:53-64.
59. Chan-Tompkins NH. Multidrug-resistant gram-negative infections. *Crit Care Nurs Q.* 2011;34(2):87-100.
60. Thomson JM, Bonomo RA. The threat of antibiotic resistance in Gram-negative pathogenic bacteria: beta-lactams in peril! *Curr Opin Microbiol.* 2005;8(5):518-24.
61. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):969-76.
62. Hall BG, Barlow M. Revised Ambler classification of  $\beta$ -lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55(6):1050-1.
63. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(3):440-58, table of contents.
64. Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SM, Kamal MA. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi J Biol Sci.* 2015;22(1):90-101.
65. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(9):785-96.
66. Martínez-Martínez L, González-López JJ. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32 Suppl 4:4-9.
67. Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(1):24-38.
68. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(7):1597-606.
69. Aires de Sousa M, de Lencastre H. Bridges from hospitals to the laboratory: genetic portraits of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2004;40(2):101-11.
70. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7(9):629-41.
71. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol.* 2008;8(6):747-63.
72. Yancheng Y, Hang C, Renjie Z, Xiancai R. Application of the SCCmec element in the molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Yi Chuan.* 2015;37(5):442-51.
73. DeLeo FR, Otto M, Kreiswirth BN, Chambers HF. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet.* 2010;375(9725):1557-68.

74. Zetola N, Francis JS, Nuermberger EL, Bishai WR. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect Dis*. 2005;5(5):275-86.
75. Otter JA, French GL. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains as a cause of healthcare-associated infection. *J Hosp Infect*. 2011;79(3):189-93.
76. Jiménez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodriguez EA, Mediavilla JR, Chen L, et al. CC8 MRSA strains harboring SCCmec type IVc are predominant in Colombian hospitals. *PLoS One*. 2012;7(6):e38576.
77. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29(12):1099-106.
78. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*. 2011.
79. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(5):913-20.
80. MacVane SH, Tuttle LO, Nicolau DP. Impact of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing organisms on clinical and economic outcomes in patients with urinary tract infection. *J Hosp Med*. 2014;9(4):232-8.
81. From the Centers for Disease Control and Prevention. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*--Minnesota and North Dakota, 1997-1999. *JAMA*. 1999;282(12):1123-5.
82. Simor AE, Pelude L, Golding G, Fernandes R, Bryce E, Frenette C, et al. Determinants of Outcome in Hospitalized Patients With Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infection: Results From National Surveillance in Canada, 2008-2012. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2016;37(4):390-7.
83. Shorr AF, Zilberberg MD, Micek ST, Kollef MH. Outcomes associated with bacteremia in the setting of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia: a retrospective cohort study. *Crit Care*. 2015;19:312.
84. Eleftheriadis T, Liakopoulos V, Leivaditis K, Antoniadis G, Stefanidis I. Infections in hemodialysis: a concise review - Part 1: bacteremia and respiratory infections. *Hippokratia*. 2011;15(1):12-7.
85. Campbell DJ, Johnson DW, Mudge DW, Gallagher MP, Craig JC. Prevention of peritoneal dialysis-related infections. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30(9):1461-72.
86. Ciavarella D, Lavallo E, Reiss RF. Coagulation factor activity in platelet concentrates stored up to 7 days: an in vitro and in vivo study. *Clin Lab Haematol*. 1986;8(3):233-42.
87. Chua K, Laurent F, Coombs G, Grayson ML, Howden BP. Antimicrobial resistance: Not community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA)! A clinician's guide to community MRSA - its evolving antimicrobial resistance and implications for therapy. *Clin Infect Dis*. 2011;52(1):99-114.
88. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*. 2007;298(15):1763-71.
89. Klevens RM, Edwards JR, Andrus ML, Peterson KD, Dudeck MA, Horan TC, et al. Dialysis Surveillance Report: National Healthcare Safety Network (NHSN)-data summary for 2006. *Semin Dial*. 2008;21(1):24-8.

90. Murray EC, Marek A, Thomson PC, Coia JE. Gram-negative bacteraemia in haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30(7):1202-8.
91. Saely S, Kaye KS, Fairfax MR, Chopra T, Pogue JM. Investigating the impact of the definition of previous antibiotic exposure related to isolation of extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Am J Infect Control*. 2011;39(5):390-5.
92. Lee HL, Whang DH, Park DW, Lee YJ, Kim YH, Chin HJ, et al. Higher Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase in Patients on Renal Replacement Therapy. *J Korean Med Sci*. 2013;28(8):1187-93.
93. Schmid H, Romanos A, Schiffl H, Lederer SR. Persistent nasal methicillin-resistant staphylococcus aureus carriage in hemodialysis outpatients: a predictor of worse outcome. *BMC Nephrol*. 2013;14:93.
94. Lautenbach E, Nachamkin I, Hu B, Fishman NO, Tolomeo P, Prasad P, et al. Surveillance cultures for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: diagnostic yield of anatomic sites and comparison of provider- and patient-collected samples. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009;30(4):380-2.
95. Correia S, Pacheco R, Radhouani H, Diniz JC, Ponce P, Jones-Dias D, et al. High prevalence of ESBL-producing *Escherichia coli* isolates among hemodialysis patients in Portugal: appearance of ST410 with the bla(CTX-M-14) gene. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;74(4):423-5.
96. Karanika S, Zervou FN, Zacharioudakis IM, Paudel S, Mylonakis E. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in dialysis patients: a meta-analysis. *J Hosp Infect*. 2015;91(3):257-63.
97. Wang CY, Wu VC, Wang WJ, Lin YF, Lin YH, Chen YM, et al. Risk factors for nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients with end-stage renal disease in Taiwan. *J Formos Med Assoc*. 2012;111(1):14-8.
98. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med*. 2012;18(5):263-72.
99. López M, Tenorio C, Torres C. Study of vancomycin resistance in faecal enterococci from healthy humans and dogs in Spain a decade after the avoparcin ban in Europe. *Zoonoses Public Health*. 2013;60(2):160-7.
100. Meek RW, Vyas H, Piddock LJ. Nonmedical Uses of Antibiotics: Time to Restrict Their Use? *PLoS Biol*. 2015;13(10):e1002266.
101. Palop Larrea V, Melchor Penella A, Martínez Mir I. [Reflections on the use of antibiotics in primary care]. *Aten Primaria*. 2003;32(1):42-7.
102. Smith DL, Dushoff J, Perencevich EN, Harris AD, Levin SA. Persistent colonization and the spread of antibiotic resistance in nosocomial pathogens: resistance is a regional problem. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(10):3709-14.
103. Stuart RL, Kotsanas D, Webb B, Vandergraaf S, Gillespie EE, Hogg GG, et al. Prevalence of antimicrobial-resistant organisms in residential aged care facilities. *Med J Aust*. 2011;195(9):530-3.
104. Harris PN. Clinical management of infections caused by Enterobacteriaceae that express extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and AmpC enzymes. *Semin Respir Crit Care Med*. 2015;36(1):56-73.
105. Leistner R, Meyer E, Gastmeier P, Pfeifer Y, Eller C, Dem P, et al. Risk factors associated with the community-acquired colonization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive *Escherichia Coli*. an exploratory case-control study. *PLoS One*. 2013;8(9):e74323.

106. Martins LR, Pina SM, Simões RL, de Matos AJ, Rodrigues P, da Costa PM. Common phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns found in a case study of multiresistant *E. coli* from cohabitant pets, humans, and household surfaces. *J Environ Health*. 2013;75(6):74-81.
107. Owens RC, Johnson JR, Stogsdill P, Yarmus L, Lolans K, Quinn J. Community transmission in the United States of a CTX-M-15-producing sequence type ST131 *Escherichia coli* strain resulting in death. *J Clin Microbiol*. 2011;49(9):3406-8.
108. Dubois V, De Barbeyrac B, Rogues AM, Arpin C, Coulange L, Andre C, et al. CTX-M-producing *Escherichia coli* in a maternity ward: a likely community importation and evidence of mother-to-neonate transmission. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(7):1368-71.
109. Gedik H, Voss TA, Voss A. Money and transmission of bacteria. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2013;2(1):22.
110. Eisenberg JN, Goldstick J, Cevallos W, Trueba G, Levy K, Scott J, et al. In-roads to the spread of antibiotic resistance: regional patterns of microbial transmission in northern coastal Ecuador. *J R Soc Interface*. 2012;9(70):1029-39.
111. Zurfluh K, Nüesch-Inderbilen MT, Poirel L, Nordmann P, Hächler H, Stephan R. Emergence of *Escherichia coli* producing OXA-48  $\beta$ -lactamase in the community in Switzerland. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2015;4:9.
112. Moore JE, Watabe M, Millar BC, Loughrey A, McCalmont M, Goldsmith CE, et al. Screening of clinical, food, water and animal isolates of *Escherichia coli* for the presence of blaCTX-M extended spectrum beta-lactamase (ESBL) antibiotic resistance gene loci. *Ulster Med J*. 2010;79(2):85-8.
113. Denholm JT, Huysmans M, Spelman D. Community acquisition of ESBL-producing *Escherichia coli*: a growing concern. *Med J Aust*. 2009;190(1):45-6.
114. Knox J, Uhlemann AC, Miller M, Hafer C, Vasquez G, Vavagiakis P, et al. Environmental contamination as a risk factor for intra-household *Staphylococcus aureus* transmission. *PLoS One*. 2012;7(11):e49900.
115. Valverde A, Grill F, Coque TM, Pintado V, Baquero F, Cantón R, et al. High rate of intestinal colonization with extended-spectrum-beta-lactamase-producing organisms in household contacts of infected community patients. *J Clin Microbiol*. 2008;46(8):2796-9.
116. Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment Options for Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections. *Open Forum Infect Dis*. 2015;2(2):ofv050.
117. Gould IM, Reilly J, Bunyan D, Walker A. Costs of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its control. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(12):1721-8.
118. Morgan DJ, Liang SY, Smith CL, Johnson JK, Harris AD, Furuno JP, et al. Frequent multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* contamination of gloves, gowns, and hands of healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31(7):716-21.
119. Catalano M, Quelle LS, Jeric PE, Di Martino A, Maimone SM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on bed rails during an outbreak and during sporadic cases. *J Hosp Infect*. 1999;42(1):27-35.
120. Kerr KG, Snelling AM. *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *J Hosp Infect*. 2009;73(4):338-44.
121. Kikuchi T, Nagashima G, Taguchi K, Kuraishi H, Nemoto H, Yamanaka M, et al. Contaminated oral intubation equipment associated with an outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas* in an intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2007;65(1):54-7.
122. Daroukh A, Delaunay C, Bigot S, Ceci JM, Siddhoun N, Bukreyeva I, et al. Characteristics and costs of carbapenemase-producing enterobacteria carriers (2012/2013). *Med Mal Infect*. 2014;44(7):321-6.

123. Panagea S, Winstanley C, Walshaw MJ, Ledson MJ, Hart CA. Environmental contamination with an epidemic strain of *Pseudomonas aeruginosa* in a Liverpool cystic fibrosis centre, and study of its survival on dry surfaces. *J Hosp Infect.* 2005;59(2):102-7.
124. Mills JP, Talati NJ, Alby K, Han JH. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Colonization and Infection among Long-Term Acute Care Hospital Residents. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2015:1-6.
125. Harris AD, Johnson JK, Thom KA, Morgan DJ, McGregor JC, Ajao AO, et al. Risk factors for development of intestinal colonization with imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit setting. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011;32(7):719-22.
126. Molina-Cabrillana J, Rodríguez-Bermejo JC, del Rosario-Quintana C, Bolaños-Rivero M. [Rapid detection of an outbreak of bronchoscopy-associated colonization by *Serratia marcescens*]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25(3):222-4.
127. Tofteland S, Naseer U, Lislevand JH, Sundsfjord A, Samuelsen O. A long-term low-frequency hospital outbreak of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* involving Intergenous plasmid diffusion and a persisting environmental reservoir. *PLoS One.* 2013;8(3):e59015.
128. Grabsch EA, Burrell LJ, Padiglione A, O'Keefe JM, Ballard S, Grayson ML. Risk of environmental and healthcare worker contamination with vancomycin-resistant enterococci during outpatient procedures and hemodialysis. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27(3):287-93.
129. Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR Recomm Rep* 50:1–43, 2001.
130. Kallen AJ, Jernigan JA, Patel PR. Decolonization to prevent infections with *Staphylococcus aureus* in patients undergoing hemodialysis: a review of current evidence. *Semin Dial.* 2011;24(5):533-9.
131. Ranjbar R, Karami A, Farshad S, Giammanco GM, Mammina C. Typing methods used in the molecular epidemiology of microbial pathogens: a how-to guide. *New Microbiol.* 2014;37(1):1-15.
132. Herschleb J, Ananiev G, Schwartz DC. Pulsed-field gel electrophoresis. *Nat Protoc.* 2007;2(3):677-84.
133. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 1995;33(9):2233-9.
134. Durmaz R, Otlu B, Koksall F, Hosoglu S, Ozturk R, Ersoy Y, et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Jpn J Infect Dis.* 2009;62(5):372-7.
135. Jiménez JN, Correa MM. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. *Iatreia* 2009. p. 147-58
136. Wilson LA, Sharp PM. Enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) sequences in *Escherichia coli*: Evolution and implications for ERIC-PCR. *Mol Biol Evol.* 2006;23(6):1156-68.
137. Pérez-Losada M, Cabezas P, Castro-Nallar E, Crandall KA. Pathogen typing in the genomics era: MLST and the future of molecular epidemiology. *Infect Genet Evol.* 2013;16:38-53.
138. García AM, Villa MV, Escudero ME, Gómez P, Vélez MM, Múnera MI, et al. [Use of nasal mupirocin for *Staphylococcus aureus*: effect on nasal carriers and nosocomial infections]. *Biomedica.* 2003;23(2):173-9.
139. Olarte NM, Valderrama IA, Reyes KR, Garzón MI, Escobar JA, Castro BE, et al. [Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a Colombian hospital intensive care unit: phenotypic and molecular characterization]. *Biomedica.* 2010;30(3):353-61.

140. Londoño J, Ortiz G. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en personal de la unidad de terapia intensiva de la Clínica Universitaria Bolivariana, Medellín 2004. *Infectio*. 2004;10(3):160-6.
141. Báez PF, Zapata MA, Ramírez A, Rúa AL, Jiménez JN. Colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en las manos de individuos de la comunidad. *Iatreia*. 2010;23(1):5-9.
142. Jimenez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodriguez EA, Garces CG, Patino LA, et al. Characterisation of virulence genes in methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a paediatric population in a university hospital of Medellín, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2011;106(8):980-5.
143. Jiménez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodriguez EA, Mediavilla JR, Chen L, et al. A comparison of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* reveals no clinical and epidemiological but molecular differences. *Int J Med Microbiol*. 2013;303(2):76-83.
144. Rodríguez EA, Correa MM, Ospina S, Atehortúa SL, Jiménez JN. Differences in epidemiological and molecular characteristics of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* (MSSA-MRSA) in children from a university hospital and day care centers. *PLoS One*. 2014;9(7):e101417.
145. Grupo GERMEN, *Staphylococcus aureus*, 2015. Disponible en: [http://www.grupogermen.org/pdf/staphylococcus\\_aureus\\_12\\_14.pdf](http://www.grupogermen.org/pdf/staphylococcus_aureus_12_14.pdf).
146. Rodríguez DA, Pérez M, Sarmiento F, Díaz J, Ruiz AI. Colonización del tracto digestivo en niños después de infección por gérmenes productores de betalactamasas de espectro extendido y tratamiento con carbapenems, estudio prospectivo. *Infectio*. 2011;15(3).
147. Jiménez A, Alvarado A, Gómez F, Carrero G, Fajardo C. [Risk factors associated with the isolation of extended spectrum betalactamases producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital in Colombia]. *Biomedica*. 2014;34 Suppl 1:16-22.
148. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Suarez CJ, Lopez JA, Vallejo M, et al. First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(8):2880-2.
149. Lopez JA, Correa A, Navon-Venezia S, Correa AL, Torres JA, Briceno DF, et al. Intercontinental spread from Israel to Colombia of a KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* strain. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(1):52-6.
150. Cuervo SI, Sánchez R, Gómez-Rincón JC, Almenares C, Osorio JP, Vargas MJ. [Behavior of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* cases in cancer patients at a third level hospital in Bogotá, D.C]. *Biomedica*. 2014;34 Suppl 1:170-80.
151. Robinson P, Lyda O, M. CA, Virginia VM. Prevalencia de bacterias Gram negativas portadoras del gen blaKPC en hospitales de Colombia. *Biomédica*. 2014;34(Supl.1):81-90.
152. Escobar Pérez JA, Olarte Escobar NM, Castro-Cardozo B, Valderrama Márquez IA, Garzón Aguilar MI, Martínez de la Barrera L, et al. Outbreak of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(4):1957-60.
153. Hernández-Gómez C, Blanco VM, Mota G, Correa A, Vallejo M, Villegas MV, et al. [Evolution of antimicrobial resistance in Gram negative bacilli from intensive care units in Colombia]. *Biomedica*. 2014;34 Suppl 1:91-100.
154. Correa A, Montealegre MC, Mojica MF, Maya JJ, Rojas LJ, De La Cadena EP, et al. First report of a *Pseudomonas aeruginosa* isolate harboring KPC and VIM carbapenemases. *Antimicrob Agents Chemother*. 56. United States 2012. p. 5422-3.

155. Villegas MV, Kattan JN, Correa A, Lolans K, Guzman AM, Woodford N, et al. Dissemination of *Acinetobacter baumannii* clones with OXA-23 Carbapenemase in Colombian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(6):2001-4.
156. Opazo A, Domínguez M, Bello H, Amyes SG, González-Rocha G. OXA-type carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* in South America. *J Infect Dev Ctries.* 2012;6(4):311-6.
157. Martínez P, Mattar S. Imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying the ISAbal-bla OXA-23,51 and ISAbal-bla ADC-7 genes in Monteria, Colombia. *Braz J Microbiol.* 2012;43(4):1274-80.
158. -GERMEN GpeEdIRaAdM. Perfiles de sensibilidad a antibióticos [www.grupogermen.com](http://www.grupogermen.com)2012 [
159. Vanegas JM, Cienfuegos AV, Ocampo AM, López L, del Corral H, Roncancio G, et al. Similar frequencies of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing KPC and VIM carbapenemases in diverse genetic clones at tertiary-care hospitals in Medellín, Colombia. *J Clin Microbiol.* 2014;52(11):3978-86.
160. Ocampo AM, Vargas C, Sierra PM, Cienfuegos AV, Jimenez JN. Molecular characterization of a carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* outbreak in a tertiary care hospital. Medellín, Colombia. *Biomedica.* 2015;35(4).
161. Ocampo AM, Chen L, Cienfuegos AV, Roncancio G, Chavda KD, Kreiswirth BN, et al. High frequency of non-CG258 clones of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with distinct clinical characteristics: A two-year surveillance in five Colombian tertiary care hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015.
162. Cienfuegos-Gallet AV, Ocampo de Los Ríos AM, Sierra Viana P, Ramirez Brinez F, Restrepo Castro C, Roncancio Villamil G, et al. Risk factors and survival of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a KPC endemic setting: a case-control and cohort study. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):830.
163. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control.* 2008;36(5):309-32.
164. Kluytmans JA, Wertheim HF. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and prevention of nosocomial infections. *Infection.* 2005;33(1):3-8.
165. Robicsek A, Beaumont JL, Wright MO, Thomson RB, Kaul KL, Peterson LR. Electronic prediction rules for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011;32(1):9-19.
166. Karanika S, Karantanos T, Arvanitis M, Grigoras C, Mylonakis E. Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clin Infect Dis.* 2016;63(3):310-8.
167. Bloodstream Infection Event (Central Line-Associated Bloodstream Infection and Non-central Line Associated Bloodstream Infection). CDC, January, 2018.
168. Naomi P. O, Grady, M.D. , Mary Alexander, R.N, et al. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections, 2011. CDC, 2011.
169. Vandecasteele SJ, Boelaert JR, De Vriese AS. *Staphylococcus aureus* infections in hemodialysis: what a nephrologist should know. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(8):1388-400.
170. Fysaraki M, Samonis G, Valachis A, Daphnis E, Karageorgopoulos DE, Falagas ME, et al. Incidence, clinical, microbiological features and outcome of bloodstream infections in patients undergoing hemodialysis. *Int J Med Sci.* 2013;10(12):1632-8.

171. Fram D, Okuno MF, Taminato M, Ponzio V, Manfredi SR, Grothe C, et al. Risk factors for bloodstream infection in patients at a Brazilian hemodialysis center: a case-control study. *BMC Infect Dis.* 2015;15:158.
172. Skov Dalgaard L, Nørgaard M, Jespersen B, Jensen-Fangel S, Østergaard LJ, Schönheyder HC, et al. Risk and Prognosis of Bloodstream Infections among Patients on Chronic Hemodialysis: A Population-Based Cohort Study. *PLoS One.* 2015;10(4):e0124547.
173. Ben-Ami R, Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Giladi M, Chmelnitsky I, et al. Influx of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae into the hospital. *Clin Infect Dis.* 2006;42(7):925-34.
174. Yeoh LY, Tan FL, Willis GC, Ooi ST. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in hospitalized chronic hemodialysis patients and its predisposing factors. *Hemodial Int.* 2014;18(1):142-7.
175. Borer A, Saidel-Odes L, Eskira S, Nativ R, Riesenber K, Livshiz-Riven I, et al. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K pneumoniae*. *Am J Infect Control.* 2012;40(5):421-5.
176. Lai CF, Liao CH, Pai MF, Chu FY, Hsu SP, Chen HY, et al. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is associated with higher all-cause mortality in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(1):167-74.
177. Saxena AK, Panhotra BR, Venkateshappa CK, Sundaram DS, Naguib M, Uzzaman W, et al. The impact of nasal carriage of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MRSA & MSSA) on vascular access-related septicemia among patients with type-II diabetes on dialysis. *Ren Fail.* 2002;24(6):763-77.
178. Viau R, Frank KM, Jacobs MR, Wilson B, Kaye K, Donskey CJ, et al. Intestinal Carriage of Carbapenemase-Producing Organisms: Current Status of Surveillance Methods. *Clin Microbiol Rev.* 2016;29(1):1-27.
179. Arcilla MS, van Hattem JM, Bootsma MC, van Genderen PJ, Goorhuis A, Schultsz C, et al. The Carriage Of Multiresistant Bacteria After Travel (COMBAT) prospective cohort study: methodology and design. *BMC Public Health.* 2014;14:410.
180. Prevention. CfDca. Laboratory protocol for detection of carbapenem-resistant or carbapenemase-producing, *Klebsiella* spp. or *E. coli* from rectal swabs. Atlanta, GA: United States Department of Health and Human Services.2009 [Available from: [https://www.cdc.gov/HAI/pdfs/labSettings/Klebsiella\\_or\\_Ecoli.pdf](https://www.cdc.gov/HAI/pdfs/labSettings/Klebsiella_or_Ecoli.pdf)].
181. CLSI. 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28nd informational supplement . CLSI document M100-S28 . Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. .
182. Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *J Clin Microbiol.* 1992;30(7):1654-60.
183. Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, et al. Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(1):264-74.
184. Milheiro C, Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for subtyping the staphylococcal cassette chromosome *mec* type IV in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: 'SCC*mec* IV multiplex'. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60(1):42-8.
185. van Mansfeld R, Jongerden I, Bootsma M, Buiting A, Bonten M, Willems R. The population genetics of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from different patient populations exhibits high-level host specificity. *PLoS One.* 2010;5(10):e13482.



186. Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, et al. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol.* 2001;39(10):3481-5.
187. Shopsin B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol.* 1999;37(11):3556-63.
188. Mathema B, Mediavilla J, Kreiswirth BN. Sequence analysis of the variable number tandem repeat in *Staphylococcus aureus* protein A gene: spa typing. *Methods Mol Biol.* 2008;431:285-305.
189. da Silva Dias RC, Borges-Neto AA, D'Almeida Ferraiuoli GI, de-Oliveira MP, Riley LW, Moreira BM. Prevalence of AmpC and other beta-lactamases in enterobacteria at a large urban university hospital in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;60(1):79-87.
190. Curran B, Jonas D, Grundmann H, Pitt T, Dowson CG. Development of a multilocus sequence typing scheme for the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol.* 2004;42(12):5644-9.
191. Diancourt L, Passet V, Verhoef J, Grimont PA, Brisse S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J Clin Microbiol.* 2005;43(8):4178-82.
192. Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA, Wisplinghoff H, Rodriguez-Valera F. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 2005;43(9):4382-90.
193. Adiri RS, Gophna U, Ron EZ. Multilocus sequence typing (MLST) of *Escherichia coli* O78 strains. *FEMS Microbiol Lett.* 2003;222(2):199-203.
194. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2000;38(3):1008-15.

## ANEXOS

### ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Proyecto:** Colonización por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos y su efecto sobre el desarrollo de bacteriemia en una cohorte de pacientes dependientes de hemodiálisis

**Investigador principal:** Judy Natalia Jiménez Quiceno. Profesora Titular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, calle 67, 53 - 108, bloque 5, oficina 135, Medellín, Colombia. Tel: 219-5497. Fax: (574) 219-5486. E-mail: jnatalia.jimenez@udea.edu.co

**Participante:**

Nombre y apellidos: \_\_\_\_\_

Cédula: \_\_\_\_\_

Código proyecto: \_\_\_\_\_

**Sitio donde se llevará a cabo el estudio:** Unidad Renal Fresenius Medical Care Hospital San Vicente Fundación

**Entidad que respalda la investigación:** Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo de Microbiología Básica y Aplicada, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia

**Información para el participante:**

A usted se le está invitando a participar en estudio titulado "Colonización y desarrollo de infecciones por bacterias sensibles y resistentes a betalactámicos en pacientes dependientes de hemodiálisis". Antes de decidir si quiere participar en este estudio, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas sobre este estudio. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme este consentimiento, del cual se le entregará una copia firmada y fechada.

## INTRODUCCIÓN

Las bacterias son seres microscópicos que son invisibles a nuestros ojos y están presentes en todos lugares, en el agua, en el suelo, en las superficies, en hospitales, en nuestros hogares y también en nuestro cuerpo, donde pueden estar sin causar ningún tipo de daño.

Algunas personas presentan condiciones que favorecen que algunas bacterias permanezcan más en su cuerpo por periodos de tiempo, es decir que se colonicen más fácil. En ciertos casos cuando el sistema de defensa del cuerpo es débil, las bacterias que nos colonizan pueden causar infección.

En los últimos años se ha visto que un grupo de estas bacterias, no responden adecuadamente al tratamiento de antibióticos que se emplea para su eliminación, es decir que son resistentes.

Los pacientes en hemodiálisis pueden ser más propensos a ser colonizados por bacterias resistentes debido a que han estado hospitalizados por largos periodos de tiempo, tienen tubos en el cuerpo y han tenido tratamientos con antibióticos.

Nuestra ciudad es reconocida por presentar un alto porcentaje de bacterias resistentes a nivel nacional e internacional, por lo que estas bacterias pueden estar circulando en los hospitales y en la comunidad sin darnos cuenta. Por lo anterior, un grupo de investigadores de la Universidad de Antioquia, están trabajando en el estudio de estas bacterias para tratar de encontrar información que sea útil para controlar su propagación y que se transmitan. Este estudio busca conocer si las bacterias resistentes pueden estar presentes en el cuerpo humano de pacientes de esta unidad de diálisis y qué características del paciente favorecen la presencia de infecciones.

Lo anterior, servirá para generar estrategias que eviten la colonización y las infecciones por bacterias resistentes y fortalecer la búsqueda y manejo de estos gérmenes en los pacientes y el ambiente con el cual están en contacto.

En este estudio se contará con la participación de alrededor de 200 pacientes, en quienes se realizará la búsqueda de bacterias resistentes durante un periodo máximo de 12 meses. Es por esto que si usted decide participar, se le tomarán algunas muestras al inicio del estudio y a los dos y seis meses después para buscar dichos microorganismos.

## **PROCEDIMIENTOS**

Si usted acepta participar en este estudio, se le solicitará una información sobre sus datos personales: identificación, edad, lugar de residencia, hospitalizaciones y cirugías previas antecedentes de enfermedades, uso de medicamentos y viajes. Esta información puede ser brindada por usted o por medio de la historia clínica de la unidad renal. A los dos y seis meses después del inicio del estudio se le preguntará si existe algún cambio en algunas de estas características.

Adicionalmente, al inicio del estudio y a los dos y seis meses después del comienzo del mismo, se le pedirá una muestra de materia fecal que debe ser entregada en un recipiente suministrado por el equipo investigador y se le realizará un frote con un palillo de algodón en nariz y en la piel alrededor del sitio de inserción del catéter, con el fin de buscar bacterias en estos lugares del cuerpo.

La muestra de materia fecal y los frotis recolectados por el equipo investigador serán enviados a un laboratorio de investigación de la Escuela de Microbiología en la Universidad de Antioquia, en donde se realizará la búsqueda de bacterias por métodos especializados.

La información que usted brinde al equipo investigador y las muestras corporales tomadas serán guardadas confidencialmente y solo serán utilizadas para propósitos de éste y otros estudios de la Universidad de Antioquia. Tanto su nombre como cédula serán ocultados para el análisis y la información brindada será guardada solo por el equipo investigador en una base de datos en un computador de la Universidad de Antioquia, al que solo los investigadores tienen acceso.

## **RIESGOS Y BENEFICIOS**

Si usted decide participar en este estudio, deberá tener presente la siguiente información:

- Los riesgos para la realización del estudio son mínimos debido a que se empleará una muestra de materia fecal que será tomada por usted mismo en su hogar. Los frotis de nariz y piel, no implican ningún tipo de dolor. Durante la toma del frotis de la nariz y la piel puede sentir una leve presión que le pasará inmediatamente sea tomada la muestra.
- Si usted está colonizado por una bacteria, será informado a usted y al personal médico de la Unidad Renal, para que evalúen su situación y ellos determinarán las medidas de manejo, en caso de que sea necesario.
- Usted puede consultar sobre los resultados del estudio en cualquier momento, incluso después de haber finalizado los doce meses de seguimiento.
- El equipo investigador cuenta con microbiólogos y médicos especialistas en enfermedades infecciosas y nefrología, que responderán todas sus preguntas sobre el estudio y a quienes podrá consultar cuando se presente alguna dificultad o problema relacionado con el proyecto.
- Su participación en el estudio no le generará gastos adicionales y en la unidad renal su manejo seguirá el proceso normal.
- Usted no recibirá ningún beneficio económico por participar en este estudio. Su participación es una contribución para conocer sobre la presencia bacterias en el cuerpo humano, su transmisión y su capacidad de causar infecciones en los pacientes en diálisis.
- Si usted es trasladado a otra unidad renal, finalizaría su participación en este estudio.
- Este estudio no tiene ningún interés económico por parte de la Universidad de Antioquia, ni por la unidad renal, así como tampoco el desarrollo de patentes con base en el material genético. La financiación será realizada con recursos de la Universidad e instituciones gubernamentales.

## **DERECHOS**

Los registros que lo puedan identificar serán mantenidos confidencialmente hasta donde los permitan las leyes colombianas y las normas de Buenas Prácticas Clínicas en Investigación:

Su nombre no aparecerá en ningún reporte de este estudio.

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Usted puede elegir si desea participar o no en el estudio, en caso de aceptar usted puede retirarse en cualquier momento sin que esto le represente alguna dificultad con el grupo de investigadores. Si usted decide retirarse o no participar en el estudio, su manejo en la unidad renal será como se ha hecho hasta ahora, sin ningún cambio.

Su participación le confiere el derecho de conocer el resultado del estudio.

Usted tiene derecho a poseer una copia del presente documento y a que se le respondan satisfactoriamente todas las preguntas respecto al estudio, que se le ocurran ahora o durante la misma.

## **COMPROMISOS DEL PARTICIPANTE**

Si usted decide participar en este estudio le solicitamos por favor brindar la información solicitada por el equipo investigador, así como también comprometerse a recolectar una muestra de materia fecal y dar su autorización para la realización del frotis en nariz y piel con el palillo de algodón. Lo anterior será realizado a su ingreso al estudio y a los 2 y 6 meses después, si usted no desarrolla una infección o no es trasladado a otra unidad renal. Así mismo, usted deberá comunicar cualquier molestia que le genere este estudio o si desea retirarse de el.

## **COMPROMISOS DEL INVESTIGADOR**

El equipo investigador de la Universidad de Antioquia se compromete a:

- Realizar el seguimiento de cada paciente una vez ingrese al estudio hasta un tiempo máximo de 12 meses.
- Solucionar cualquier problema que surja del estudio.
- Guardar la confidencialidad de los datos del participante.
- Informar al participante sobre cualquier hallazgo del estudio que pueda significar problemas, riesgos o beneficios.
- Realizar reuniones semestrales en la Unidad Renal, con el fin de presentar los resultados que se vayan obteniendo del estudio.
- Publicar los resultados obtenidos a la comunidad científica.

## **RESULTADOS ESPERADOS**

Los potenciales beneficios de este trabajo para la sociedad y la comunidad científica, están enfocados en controlar la propagación de bacterias resistentes, con miras al mejoramiento de las condiciones de salud de los pacientes en diálisis. Para ello, el conocimiento sobre la presencia de bacterias en los pacientes en hemodiálisis, su transmisión y factores que aumenten el riesgo de adquirir estos microorganismos, permitirá orientar a las unidades de diálisis sobre el diseño de estrategias de prevención y control de la resistencia al ingreso de los pacientes; con el fin de reducir el riesgo de aparición de infecciones por microorganismos resistentes y evitar su diseminación.

## **PERSONAS A CONTACTAR PARA INFORMACIÓN**

Si usted tiene alguna inquietud relacionada con el estudio puede contactar a Judy Natalia Jiménez Q, profesora Titular de la Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Calle 67, 53- 108, bloque 5, oficina 135, Medellín, Colombia. Tel: 219-5497, fax: (574) 219-5486. E-mail: jnatalia.jimenez@udea.edu.co. También puede contactar a Johanna Vanegas, Microbióloga y estudiante

de doctorado en epidemiología, Universidad de Antioquia. Calle 67,53- 108, bloque 5, oficina 107, Medellín, Colombia. Tel: 219-848. E-mail: johanna.vanegas@udea.edu.co.

### ACEPTACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN

Para este estudio le pedimos permiso para tomarle las muestras en la nariz y la piel al inicio del estudio y a los 2 y 6 meses después. También le pedimos autorización para consultar sus historias clínicas y los registros médicos que se tengan en la unidad renal. Con su firma certifica que ha leído o le han leído el presente formato de consentimiento informado, que le han sido resueltas sus preguntas a satisfacción y que acepta de manera voluntaria participar en el presente estudio.

He leído y comprendido completamente la información relacionada sobre mi participación en este estudio. Así mismo, he escuchado satisfactoriamente las explicaciones sobre este estudio y he tenido la oportunidad de hacer preguntas. Estoy enterado(a) de las incomodidades, riesgos y beneficios potenciales de mi participación y sé que puedo retirarme del estudio en cualquier momento. Doy permiso para el uso de mis registros médicos y de la información que yo brinde para fines del estudio. Adicionalmente, autorizo la recolección de las muestras en la nariz y piel y la entrega de la muestra de materia fecal para los propósitos de este estudio.

Comprendo que al firmar este documento de consentimiento acepto participar de manera libre y voluntaria en este estudio, sin renunciar a ninguno de los derechos legales que yo tendría al participar en el mismo. De igual forma, manifiesto que no he recibido presiones verbales, escritas y/o gestuales para participar en el estudio; que dicha decisión la tomo en pleno uso de mis facultades mentales, sin encontrarme bajo efectos de medicamentos, drogas o bebidas alcohólicas, de forma consciente, autónoma y libre.

Su firma abajo indica que usted decidió participar en este estudio. Por favor, firme (o coloque su huella digital) si usted libremente decidió hacer parte de este estudio y por favor indique si acepta o no las siguientes condiciones:

- Estoy de acuerdo en la revisión de mi historia clínica y de mis registros por parte del equipo investigador
- Autorizo el uso de mis registros médicos y el almacenamiento de las bacterias obtenidas a partir de la muestras de laboratorio para los propósitos de esta y otras investigaciones en el futuro

	Nombre (en letra clara)	Lugar y fecha (día/mes/año)	Firma o huella digital
Participante			

## Testigo

Observé el proceso de consentimiento. El potencial participante leyó este formato (o le ha sido leído), tuvo oportunidad de hacer preguntas, estuvo conforme con las respuestas y firmó (o colocó su huella digital) para ingresar al estudio.

Firme (o coloque su huella digital):

	Nombre (en letra clara)	Dirección y teléfono	Parentesco con el participante	Firma o huella digital
Testigo 1				
Testigo 2				

## Persona que conduce el consentimiento

Confirmando que el participante entiende los procedimientos, riesgos y beneficios implicados en participar en este estudio.

Nombre del investigador \_\_\_\_\_

Firma del investigador \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

## ANEXO 2: FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

I. INFORMACIÓN SOCIODEMOGRÁFICA	
Código formulario:	Identificación:
Nombres:	Apellidos:
Fecha de nacimiento: DD ____/MM ____/AAAA _____	Edad: _____
EPS: _____	Sexo: Masculino <input type="checkbox"/> Femenino <input type="checkbox"/>
Teléfonos: Casa: _____ Celular: _____ Trabajo: _____ Otro: _____	
Comuna: _____	Estrato socioeconómico: _____ Número de habitantes de la vivienda: _____
Ocupación: _____	Tabaquismo: NO <input type="checkbox"/> Pasado <input type="checkbox"/> Actual <input type="checkbox"/> No. Cigarrillos/día: _____
II. INFORMACIÓN GENERAL DE LA DIÁLISIS	
1. Estancia en unidad de diálisis diferente a la actual en los seis meses previos: Sí <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	
En caso de sí, especifique: Nombre de la unidad: _____ Municipio: _____	
Tiempo de permanencia en la unidad renal: _____ días <input type="checkbox"/> No dato	
2. Fecha de Ingreso a la unidad renal actual: DD ____/MM ____/AAAA _____	
3. Fecha de inicio de la diálisis: DD ____/MM ____/AAAA _____	
4. Número que identifica la silla en la que el paciente recibe las sesiones de diálisis: _____ Sala: _____	
III. COMORBILIDADES	
5. El paciente tiene una enfermedad de base diferente a la insuficiencia renal crónica: Sí <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	
En caso de sí, elija la condición que presenta el paciente:	
<input type="checkbox"/> Tumor maligno de órgano sólido	<input type="checkbox"/> Demencia
<input type="checkbox"/> Malignidad hematológica (linfoma o leucemia)	<input type="checkbox"/> Enfermedad arterial periférica
<input type="checkbox"/> EPOC	<input type="checkbox"/> Hepatopatía crónica (cirrosis)
<input type="checkbox"/> Fibrosis quística	<input type="checkbox"/> Osteomielitis crónica
<input type="checkbox"/> Infección por VIH-SIDA	<input type="checkbox"/> Enfermedad del tejido conectivo
<input type="checkbox"/> Diabetes mellitus	<input type="checkbox"/> Hipertensión arterial
<input type="checkbox"/> Falla cardíaca	<input type="checkbox"/> Hipoacusia
<input type="checkbox"/> Enfermedad coronaria (infarto, revascularización coronaria)	<input type="checkbox"/> Dislipidemia
	<input type="checkbox"/> Otra Cuál (es): _____



6. Índice de Charlson Unidad Renal: _____	7. Índice de Charlson ajustado Unidad Renal: _____
---	--

8. Índice de Karnofsky: Seleccione el valor del puntaje, según la siguiente escala:

Valor	Nivel de capacidad funcional	Definición
100 <input type="checkbox"/>	Normal, sin quejas, sin evidencia de enfermedad	Capaz de realizar una actividad y trabajo normal; no necesita cuidados especiales
90 <input type="checkbox"/>	Capaz de realizar una actividad normal, signos o síntomas menores de enfermedad	
80 <input type="checkbox"/>	Actividad normal con esfuerzo, algunos signos o síntomas de enfermedad	
70 <input type="checkbox"/>	Se preocupa por sí mismo, incapaz de llevar una actividad normal o realizar un trabajo activo	Incapaz de trabajar, capaz de vivir en el hogar y atender la mayoría de las necesidades personales, requiere diversos grados de asistencia
60 <input type="checkbox"/>	Requiere asistencia ocasional, pero es capaz de atender la mayoría de sus necesidades	
50 <input type="checkbox"/>	Requiere asistencia considerable y cuidados médicos frecuentes	
40 <input type="checkbox"/>	Incapacitado, requiere cuidados y asistencia especial	
30 <input type="checkbox"/>	Severamente incapacitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente	Imposibilidad de cuidarse a sí mismo, requiere de atención institucional u hospitalaria equivalente, la enfermedad puede progresar rápidamente
20 <input type="checkbox"/>	Es necesaria la hospitalización, muy enfermo, tratamiento activo de soporte es necesario	
10 <input type="checkbox"/>	Moribundo, proceso fatal progresando rápidamente	
0 <input type="checkbox"/>	Muerte	

#### IV. CARACTERÍSTICAS Y ANTECEDENTES CLÍNICOS

1. Acceso vascular para hemodiálisis:

Catéter de diálisis       Catéter de diálisis permanente       Tunelizado       No tunelizado

2. Negación al uso de fístula:      Sí  NO  Razón: \_\_\_\_\_

3. Cambio a fístula    Sí  NO  Fecha: DD \_\_\_\_/MM\_\_\_\_/AAAA\_\_\_\_

4. Lugar del catéter:    Femoral       Yugular

5. Fecha de inserción del catéter: DD \_\_\_\_/MM\_\_\_\_/AAAA\_\_\_\_

6. Antecedente de cirugía en el último año:	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
7. Antecedente de trasplante de órgano sólido:	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
En caso de sí, elija el órgano trasplantado y diligencie la fecha del trasplante: Fecha: DD ____/MM____/AAAA_____		
<input type="checkbox"/> Riñón	<input type="checkbox"/> Corazón	
<input type="checkbox"/> Pulmón	<input type="checkbox"/> Hígado	
<b>En los últimos 6 meses antes de la toma de la muestra:</b>		
8. Diálisis peritoneal:	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
9. Hospitalización:	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
10. Infección o colonización previa por bacterias sensibles o resistentes a betalactámicos:	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
En caso de sí, especifique: Infección <input type="checkbox"/> Colonización <input type="checkbox"/>		
Género y especie bacteriana:		
<input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> sensible a meticilina	<input type="checkbox"/> Enterobacteria	Cuál: _____
<input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> resistente a meticilina	<input type="checkbox"/> Enterobacteria carbapenemasa +	Cuál: _____
<input type="checkbox"/> <i>S. epidermidis</i> sensible a meticilina	<input type="checkbox"/> Enterobacteria BLEE +	Cuál: _____
<input type="checkbox"/> <i>S. epidermidis</i> resistente a meticilina	<input type="checkbox"/> BGN-NF	Cuál: _____
	<input type="checkbox"/> BGN-NF resistente carbapenémicos	Cuál: _____
11. Estancia en Unidad de Cuidados Intensivos:	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
12. Estancia en lugar de cuidado prolongado (ancianato, asilo, hogar de paso)	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
13. Servicios de medicina domiciliaria (antibioterapia u otros medicamentos):	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
14. Condiciones o terapias inmunosupresoras:	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
En caso de sí, elija: <input type="checkbox"/> Quimioterapia <input type="checkbox"/> Esteroides sistémicos <input type="checkbox"/> Inmunomoduladores <		
15. Presencia de dispositivos médicos invasivos:	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
En caso de sí, elija:		
<input type="checkbox"/> Intubación endotraqueal o traqueostomía	<input type="checkbox"/> Colostomía	<input type="checkbox"/> Nutrición parenteral
<input type="checkbox"/> Nutrición enteral	<input type="checkbox"/> Sonda vesical permanente	

#### V. VARIABLES RELACIONADAS CON LA ALIMENTACIÓN, CUIDADO DEL CETÉTER Y VIAJES

1. Frecuencia semanal del consumo de carne de cerdo:

Ninguna  1 vez  2 veces  3 o más veces

2. Frecuencia semanal del consumo de carne de pollo: Ninguna <input type="checkbox"/> 1 vez <input type="checkbox"/> 2 veces <input type="checkbox"/> 3 o más veces <input type="checkbox"/>
3. Tipo de agua utilizada para el consumo diario: Hervida <input type="checkbox"/> Grifo <input type="checkbox"/> Otra <input type="checkbox"/> Cuál: _____
4. ¿Es vegetariano? Sí <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
5. Uñas largas observadas (al menos una con más de 5 mm de largo): Sí <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
6. ¿Humedece con frecuencia el apósito del catéter durante el baño? Sí <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
7. Prurito frecuente en la zona alrededor del catéter Sí <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> En caso de sí, responda: <input type="checkbox"/> Rascado directo <input type="checkbox"/> Rascado sobre la ropa
8. Viaje internacional en el último año: Sí <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> En caso de sí, indique el país : _____

#### VI. VARIABLES DEPENDIENTES DEL TIEMPO: INICIO DE SEGUIMIENTO

1. Fecha: DD ____/MM____/AAAA_____			
2. Hospitalización (últimos 6 meses):		Sí <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
3. Uso de antibióticos (últimos 6 meses):		Sí <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
En caso de sí, elija el grupo de antibiótico utilizado:			
<input type="checkbox"/> Penicilinas	<input type="checkbox"/> Lipopéptidos		
<input type="checkbox"/> Monobactámicos	<input type="checkbox"/> Oxazolidinonas		
<input type="checkbox"/> Piperacilina/Tazobactam	<input type="checkbox"/> Aminoglicósidos		
<input type="checkbox"/> Otras penicilinas/inhibidores	<input type="checkbox"/> Macrólidos		
<input type="checkbox"/> Carbapenémicos	<input type="checkbox"/> Lincosamidas		
<input type="checkbox"/> Cefalosporinas 1ra generación	<input type="checkbox"/> Quinolonas y fluoroquinolonas		
<input type="checkbox"/> Cefalosporinas 2da generación	<input type="checkbox"/> Rifamicinas		
<input type="checkbox"/> Cefalosporinas 3ra generación	<input type="checkbox"/> Sulfonamidas		
<input type="checkbox"/> Cefalosporinas 4ta generación	<input type="checkbox"/> Tetraciclinas		
<input type="checkbox"/> Glicopéptidos	<input type="checkbox"/> Polimixinas		
4. Hemoglobina: _____	5. Albúmina _____	6. Fe sérico: _____	7. Eritropoyetina: _____
5. Colonización actual por bacterias sensibles o resistentes a betalactámicos:		Sí <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
En caso de sí elija género, especie y mecanismo de resistencia a betalactámicos de la bacteria aislada:			
<input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> sensible a meticilina	<input type="checkbox"/> Piel	<input type="checkbox"/> Fosas nasales	
<input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> resistente a meticilina	<input type="checkbox"/> Piel	<input type="checkbox"/> Fosas nasales	

<input type="checkbox"/> Enterobacteria BLEE +	Cuál (género y especie): _____
<input type="checkbox"/> Enterobacteria carbapenemasa +	Cuál (género y especie): _____
<input type="checkbox"/> Enterobacteria carbapenemasa -	Cuál (género y especie): _____
<input type="checkbox"/> BGN-NF carbapenemasa +	Cuál (género y especie): _____
<input type="checkbox"/> BGN-NF carbapenemasa -	Cuál (género y especie): _____

VII. VARIABLES DEPENDIENTES DEL TIEMPO: SEGUIMIENTO 2			
6. Fecha: DD ____/MM____/AAAA_____			
7. Hospitalización (últimos 6 meses):		SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
8. Uso de antibióticos (últimos 6 meses):		SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
En caso de sí, elija el grupo de antibiótico utilizado:			
<input type="checkbox"/> Penicilinas	<input type="checkbox"/> Lipopéptidos		
<input type="checkbox"/> Monobactámicos	<input type="checkbox"/> Oxazolidinonas		
<input type="checkbox"/> Piperacilina/Tazobactam	<input type="checkbox"/> Aminoglicósidos		
<input type="checkbox"/> Otras penicilinas/inhibidores	<input type="checkbox"/> Macrólidos		
<input type="checkbox"/> Carbapenémicos	<input type="checkbox"/> Lincosamidas		
<input type="checkbox"/> Cefalosporinas 1ra generación	<input type="checkbox"/> Quinolonas y fluoroquinolonas		
<input type="checkbox"/> Cefalosporinas 2da generación	<input type="checkbox"/> Rifamicinas		
<input type="checkbox"/> Cefalosporinas 3ra generación	<input type="checkbox"/> Sulfonamidas		
<input type="checkbox"/> Cefalosporinas 4ta generación	<input type="checkbox"/> Tetraciclinas		
<input type="checkbox"/> Glicopéptidos	<input type="checkbox"/> Polimixinas		
9. Hemoglobina: _____	5. Albúmina _____	6. Fe sérico: _____	7. Eritropoyetina: _____
10. Colonización actual por bacterias sensibles o resistentes a betalactámicos:		SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
En caso de sí elija género, especie y mecanismo de resistencia a betalactámicos de la bacteria aislada:			
<input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> sensible a meticilina	<input type="checkbox"/> Piel	<input type="checkbox"/> Fosas nasales	
<input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> resistente a meticilina	<input type="checkbox"/> Piel	<input type="checkbox"/> Fosas nasales	
<input type="checkbox"/> Enterobacteria BLEE +	Cuál (género y especie): _____		
<input type="checkbox"/> Enterobacteria carbapenemasa +	Cuál (género y especie): _____		
<input type="checkbox"/> Enterobacteria carbapenemasa -	Cuál (género y especie): _____		<input type="checkbox"/> BGN-NF
carbapenemasa +	Cuál (género y especie): _____		

**9. VARIABLES DEPENDIENTES DEL TIEMPO: SEGUIMIENTO 3**

11. Fecha: DD \_\_\_\_/MM \_\_\_\_/AAAA \_\_\_\_

12. Hospitalización (últimos 6 meses):                      Sí     NO

13. Uso de antibióticos (últimos 6 meses):                      Sí     NO

En caso de sí, elija el grupo de antibiótico utilizado:

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Penicilinas                   | <input type="checkbox"/> Lipopéptidos                  |
| <input type="checkbox"/> Monobactámicos                | <input type="checkbox"/> Oxazolidinonas                |
| <input type="checkbox"/> Piperacilina/Tazobactam       | <input type="checkbox"/> Aminoglicósidos               |
| <input type="checkbox"/> Otras penicilinas/inhibidores | <input type="checkbox"/> Macrólidos                    |
| <input type="checkbox"/> Carbapenémicos                | <input type="checkbox"/> Lincosamidas                  |
| <input type="checkbox"/> Cefalosporinas 1ra generación | <input type="checkbox"/> Quinolonas y fluoroquinolonas |
| <input type="checkbox"/> Cefalosporinas 2da generación | <input type="checkbox"/> Rifamicinas                   |
| <input type="checkbox"/> Cefalosporinas 3ra generación | <input type="checkbox"/> Sulfonamidas                  |
| <input type="checkbox"/> Cefalosporinas 4ta generación | <input type="checkbox"/> Tetraciclinas                 |
| <input type="checkbox"/> Glicopéptidos                 | <input type="checkbox"/> Polimixinas                   |

14. . Hemoglobina: \_\_\_\_\_

5. Albúmina \_\_\_\_\_

6. Fe sérico: \_\_\_\_\_

7. Eritropoyetina: \_\_\_\_\_

15. Colonización actual por bacterias sensibles o resistentes a betalactámicos:                      Sí     NO

En caso de sí elija género, especie y mecanismo de resistencia a betalactámicos de la bacteria aislada:

- |   |                                |  |
|---|--------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> sensible a meticilina   | <input type="checkbox"/> Piel  | <input type="checkbox"/> Fosas nasales |
| <input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> resistente a meticilina | <input type="checkbox"/> Piel  | <input type="checkbox"/> Fosas nasales |
| <input type="checkbox"/> Enterobacteria BLEE +                    | Cuál (género y especie): _____ |  |
| <input type="checkbox"/> Enterobacteria carbapenemasa +           | Cuál (género y especie): _____ |  |
| <input type="checkbox"/> Enterobacteria carbapenemasa -           | Cuál (género y especie): _____ |  |
| <input type="checkbox"/> BGN-NF carbapenemasa +                   | Cuál (género y especie): _____ |  |
| <input type="checkbox"/> BGN-NF carbapenemasa -                   | Cuál (género y especie): _____ |  |

#### 14. INFECCIÓN

1. Bacteriemia durante el seguimiento: Sí  NO

En caso de sí, seleccione la bacteria causante de la infección:

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> sensible a meticilina        | <input type="checkbox"/> Enterobacteria Cuál: _____                 |
| <input type="checkbox"/> <i>S. aureus</i> resistente a meticilina      | <input type="checkbox"/> Enterobacteria carbapenemasa + Cuál: _____ |
| <input type="checkbox"/> <i>S. epidermidis</i> sensible a meticilina   | <input type="checkbox"/> Enterobacteria BLEE + Cuál: _____          |
| <input type="checkbox"/> <i>S. epidermidis</i> resistente a meticilina | <input type="checkbox"/> BGN-NF Cuál: _____                         |
|  | <input type="checkbox"/> BGN-NF carbapenemasa + Cuál: _____         |

2. Seleccione el tipo de infección de acuerdo con la colonización:

- Infección por cualquier bacteria sensible o resistente Cuál: \_\_\_\_\_ Fecha: DD \_\_\_/MM\_\_\_/AAAA\_\_\_
- Infección por la misma especie que coloniza, sin el mismo perfil genético Fecha: DD \_\_\_/MM\_\_\_/AAAA\_\_\_
- Infección por la misma especie que coloniza, con el mismo perfil genético Fecha: DD \_\_\_/MM\_\_\_/AAAA\_\_\_

3. Infección polimicrobiana: Sí  NO

4. Tipo de infección:

- Bacteriemia  Endocarditis  Otra (cuál): \_\_\_\_\_

5. Tratamiento: Sí  NO

En caso de sí, elija el grupo de antibiótico utilizado:

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Penicilinas                   | <input type="checkbox"/> Lipopéptidos                  |
| <input type="checkbox"/> Monobactámicos                | <input type="checkbox"/> Oxazolidinonas                |
| <input type="checkbox"/> Piperacilina/Tazobactam       | <input type="checkbox"/> Aminoglicósidos               |
| <input type="checkbox"/> Otras penicilinas/inhibidores | <input type="checkbox"/> Macrólidos                    |
| <input type="checkbox"/> Carbapenémicos                | <input type="checkbox"/> Lincosamidas                  |
| <input type="checkbox"/> Cefalosporinas 1ra generación | <input type="checkbox"/> Quinolonas y fluoroquinolonas |
| <input type="checkbox"/> Cefalosporinas 2da generación | <input type="checkbox"/> Rifamicinas                   |
| <input type="checkbox"/> Cefalosporinas 3ra generación | <input type="checkbox"/> Sulfonamidas                  |
| <input type="checkbox"/> Cefalosporinas 4ta generación | <input type="checkbox"/> Tetraciclinas                 |
| <input type="checkbox"/> Glicopéptidos                 | <input type="checkbox"/> Polimixinas                   |

6. Ingreso a sala de hospitalización para tratamiento de la infección actual: Sí  NO

En caso de sí, especifique:

Fecha hospitalización: DD \_\_\_/MM\_\_\_/AAAA\_\_\_ Fecha alta: DD \_\_\_/MM\_\_\_/AAAA\_\_\_

7. Desenlace de la infección:

Curación

Mejoría

Muerte

Falla terapéutica

Alta voluntaria

### 15. INFORMACIÓN DE CENSURAS

8. Censura durante el periodo de seguimiento:

SÍ

NO

En caso de sí, especifique el tipo de censura:

Muerte

Trasplante renal

Cambio de modalidad a diálisis peritoneal

Retiro voluntario del estudio

Cambio de unidad renal

Fecha: DD \_\_\_\_/MM\_\_\_\_/AAAA\_\_\_\_\_

## ANEXO 3: DEFINICIÓN DE TÉRMINOS UTILIZADOS EN EL FORMULARIO

### Variables demográficas, clínicas y epidemiológicas del paciente al ingreso:

- 1. Edad:** Edad en años cumplidos hasta el día del ingreso al estudio, calculada con la fecha de nacimiento registrada en la cedula de ciudadanía
- 2. Sexo:** Sexo biológico femenino o masculino
- 3. Unidad renal previa:** Estancia en una unidad de diálisis diferente a la actual en los seis meses previos al ingreso en el estudio. En caso de ser afirmativa la respuesta, se debe indicar el nombre de la unidad y el municipio donde está ubicada, así como el tiempo que permaneció el paciente en dicho lugar
- 4. Fecha de ingreso a la unidad de diálisis:** Fecha en la cual el paciente ingresó a la unidad renal actual
- 5. Tiempo en diálisis:** Tiempo en meses cumplidos desde el inicio de la terapia de reemplazo renal (cualquier modalidad incluida ultrafiltración, hemodiálisis o diálisis peritoneal), calculado con la fecha de inicio de la terapia de reemplazo renal hasta el momento del ingreso al estudio
- 6. Número de silla:** Número que identifica la silla en la que el paciente recibe siempre las sesiones de diálisis en la unidad renal
- 7. Infección o colonización previa por bacterias resistentes:** Historia de Infección o colonización en cualquier sitio corporal por bacterias identificadas durante los tres meses previos al diligenciamiento del formulario. En caso afirmativo, se especificará el género, la especie y el perfil de resistencia
- 8. Comorbilidades:** Historia de cualquiera de las siguientes enfermedades en el último año: tumor maligno de órgano sólido, malignidad hematológica (linfoma o leucemia), EPOC, fibrosis quística, infección VIH-sida, diabetes mellitus, enfermedades del tejido conectivo (lupus, artritis reumatoide, Sjogren, vasculitis sistémicas), falla cardíaca, enfermedad coronaria (historia de infarto de miocardio o revascularización coronaria), demencia, enfermedad arterial periférica, hepatopatía crónica (cirrosis) y osteomielitis crónica
- 9. Índice de Charlson:** Es un índice de comorbilidad que será calculado mediante la suma de los puntajes obtenidos según las siguientes indicaciones:



- a. Se asigna 1 a la presencia de Infarto de miocardio, Insuficiencia cardíaca congestiva, Enfermedad vascular periférica, enfermedad cerebral, Demencia, Enfermedad pulmonar crónica, Enfermedad del tejido conectivo, enfermedad ulcerosa, Enfermedad hepática leve, Diabetes sin daño órgano blanco.
- b. Se asigna 2 a la presencia de hemiplejía, Enfermedad renal moderada o severa, Diabetes con daño órgano blanco, Presencia de tumor sin metástasis, leucemia, linfoma.
- c. Se asigna 3 a la presencia de enfermedad hepática moderada o severa.
- d. Se asigna 6 a la presencia de tumor metastásico y sida.

**10. Trasplante de órgano sólido:** Antecedente de trasplante de órgano sólido: corazón, pulmón, riñón o hígado

**11. Viaje reciente:** Historia de viaje internacional los seis meses previos al ingreso

**12. Dieta vegetariana:** Dieta basada en el consumo de frutas y verduras, sin ningún tipo de cárnico de origen animal

**13. Consumo de pollo:** Número de veces a la semana que consume carne de pollo

**14. Consumo de carne de cerdo:** Número de veces a la semana que consume carne de cerdo

**15. Agua para el consumo:** Tipo de agua utilizada para el consumo diario: directamente del grifo, hervida o envasada

**Información general de la vivienda:**

**1. Comuna:** Comuna en la que se encuentra el lugar de residencia del paciente: 1. Barrio Popular, 2. Santa Cruz, 3. Manrique, 4. Aranjuez, 5. Castilla, 6. Doce de Octubre, 7. Robledo, 8. Villa Hermosa, 9. Buenos aires, 10. La Candelaria, 11 Laureles-Estadio, 12. La América, 13. San Javier, 14. El Poblado, 15. Guayabal, 16. Belén

**2. Barrio:** Barrio en el cual reside el paciente

**3. Estrato:** Estrato socioeconómico referido en la cuenta de servicios

**4. Habitantes en la vivienda:** Número total de personas que habitan en la misma vivienda

### **Variables de seguimiento para el paciente:**

- 1. Acceso vascular:** Acceso vascular para hemodiálisis. Incluye fistula arterio-venosa, catéter para diálisis (temporal o permanente) o injerto vascular
- 2. Antecedente de cirugía en el último año:** Historia de intervención quirúrgica bajo anestesia general en el año previo al diligenciamiento del formulario para el primer ingreso o durante el seguimiento
- 3. Hospitalizaciones previas:** Número de veces que el paciente ha sido hospitalizado por más de 2 días en los seis meses previos al diligenciamiento del formulario para el primer ingreso o durante el seguimiento
- 4. Estancia en unidad de cuidados intensivos:** Hospitalización en una unidad de cuidado intensivo en los seis meses previos al diligenciamiento del formulario para el primer ingreso o durante el seguimiento
- 5. Estancia en un lugar cuidado prolongado:** Historia de internación en lugar de cuidado prolongado (ancianato, asilo, hogar de paso), durante más de dos días en los últimos seis meses previos al diligenciamiento del formulario para el primer ingreso o durante el seguimiento
- 6. Servicios medicina domiciliaria:** Historia de Servicio de medicina domiciliaria para aplicación de medicamentos parenterales en los seis meses previos al diligenciamiento del formulario para el primer ingreso o durante el seguimiento
- 7. Terapias inmunosupresoras:** Exposición a tratamientos que reducen o suprimen la respuesta inmune en los últimos seis meses para el primer ingreso o durante el seguimiento:
  - a. Quimioterapia: Utilización de medicamentos inmunodepresores como tratamiento para algún tipo de cáncer
  - b. Esteroides sistémicos: Uso de glucocorticoides sistémicos a una dosis equivalente a usar prednisolona a 10 mg/día o dosis acumulativas de 700 mg. Es decir uso de betametasona: 1.2 mg/día o 84mg acumulados, cortisona: 50 mg/día o 3500 mg acumulados, dexametasona: 1.5 mg/día o 105 mg acumulada, Hidrocortisona: 40 mg/día o 2800 mg acumulados, metilprednisona: 8 mg/día o 560 mg acumulados, deflazacort 12 mg / día
  - c. Inmunomoduladores: Uso de ciclosporina, tacrolimus, azatioprina, micofenolato, ciclofosfamida, merotexato, infliximab, ertanecep, alemtuzumba, rituximab o penicilamina

**8. Presencia de dispositivos médicos invasivos:** Presencia de dispositivos que irrumpen las barreras naturales o presencia de instrumentos externos que permanezcan en el paciente durante los tres meses previos al diligenciamiento del formulario para el primer ingreso o durante el seguimiento. Incluyen:

- a. Intubación endotraqueal o traqueostomía
- b. Nutrición parenteral: puede ser administrada por vía central o periférica (vía catéter venoso central)
- c. Nutrición enteral por sonda nasogástrica o gastrostomía
- d. Colostomía
- e. Sonda vesical permanente

**9. Uso de antibióticos en los últimos tres meses:** Utilización de cualquier antibiótico sistémico (oral o parenteral) en los tres meses previos al diligenciamiento del formulario para el primer ingreso o durante el seguimiento. En caso de que la respuesta sea afirmativa se debe indicar el grupo de antibióticos de acuerdo con la siguiente lista:

- a. Penicilinas: meticilina, oxacilina, penicilina G, amoxicilina, ampicilina
- b. Monobactámicos: aztreonam
- c. Piperacilina/tazobactam
- d. Otros betalactámicos más inhibidores: ampicilina/sulbactam
- e. Carbapenémicos: ertapenem, meropenem, imipenem, doripenem
- f. Cefalosporinas: de primera generación (cefalexina), segunda generación, tercera generación (ceftriaxona) o cuarta generación (cefepime)
- g. Glicopéptidos: vancomicina
- h. Lipopéptidos: daptomicina
- i. Oxazolidinonas; linezolid
- j. Aminoglicósidos: gentamicina, estreptomina, amikacina
- k. Macrólidos: eritromicina, azitromicina

- l. Linconsamidas: clindamicina
- m. Quinolonas y fluoroquinolonas: ciprofloxacina, ácido nalidíxico
- n. Rifamicinas: rifampicina
- o. Sulfonamidas: trimetopim/sulfametoxazol
- p. Tetraciclinas: tigeciclina, doxicilina
- q. Polimixinas: colistina, polimixina B

**Variables de exposición para el paciente:**

- 1. Colonización actual por bacterias sensibles o resistentes a betalactámicos:** Aislamiento de *S. aureus* sensible o resistente a meticilina, enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido o cualquier bacilo Gram negativo productor de carbapenemasas), a partir de las muestras de tamización tomadas por el equipo investigador durante el seguimiento
- 2. Bacteria aislada:** Género, especie y mecanismo de resistencia a betalactámicos de la bacteria aislada a partir del tamización de la colonización
- 3. Sitio de colonización:** Sitio corporal a partir del cual se obtuvo aislamiento bacteriano. Incluyen: fosas nasales, piel o intestino

**Variables de desenlace para el paciente:**

- 1. Infección bacteriana:** Evidencia clínica de síntomas y confirmación por laboratorio de aislamiento microbiológico, diagnosticada por un médico y que amerite tratamiento antibiótico sistémico (oral o parenteral)
- 2. Fecha de diagnóstico clínico de la infección:** Fecha en la cual el médico hace la presunción diagnóstica del proceso infeccioso actual. Se debe especificar el día, el mes y el año.
- 3. Bacteria aislada:** Género, especie de la bacteria aislada a partir del sitio de la infección
- 4. Infección polimicrobiana:** Evidencia clínica y por laboratorio de crecimiento de dos o más bacterias sensibles o resistentes a betalactámicos a partir de la misma muestra

**5. Tratamiento:** Antibiótico administrado como tratamiento dirigido después del reporte del crecimiento bacteriano dado por el laboratorio:

- a. Penicilinas: meticilina, oxacilina, penicilina G, amoxicilina, ampicilina
  - b. Monobactámicos: aztreonam
  - c. Piperacilina/tazobactam
  - d. Otros betalactámicos más inhibidores: ampicilina/sulbactam
  - e. Carbapenémicos: ertapenem, meropenem, imipenem, doripenem
  - f. Cefalosporinas: de primera generación (cefalexina), segunda generación, tercera generación (ceftriaxona) o cuarta generación (cefepime)
  - g. Glicopéptidos: vancomicina
  - h. Lipopéptidos: daptomicina
  - i. Oxazolidinonas; linezolid
  - j. Aminoglicósidos: gentamicina, estreptomicina, amikacina
  - k. Macrólidos: eritromicina, azitromicina
  - l. Linconsamidas: clindamicina
  - m. Quinolonas y fluoroquinolonas: ciprofloxacina, ácido nalidíxico
  - n. Rifamicinas: rifampicina
  - o. Sulfonamidas: trimetoprim/sulfametoxazol
  - p. Tetraciclinas: tigeciclina, doxicilina
  - q. Polimixinas: colistina, polimixina B
- 6. Necesidad de hospitalización:** Necesidad de ingreso a sala de hospitalización para tratamiento o complicaciones de la infección actual

- 7. Fecha del alta en caso de requerir hospitalización:** Fecha en que el paciente es dado de alta de la institución hospitalaria después de adquirir la infección
- 8. Total días de estancia de estancia hospitalaria en caso de requerir hospitalización:** Tiempo transcurrido en días desde la fecha de ingreso hasta la fecha de alta
- 9. Desenlace al final de la infección:** Estado del paciente frente al proceso infeccioso haya estado o no hospitalizado:
- a. Curación: señalar si el paciente tuvo una resolución completa de la infección después de terminado el tratamiento
  - b. Mejoría: señalar si el paciente tuvo resolución parcial de la infección y requirió continuar tomando antibióticos después del alta
  - c. Muerte: Señalar si el paciente murió durante la hospitalización
  - d. Falla terapéutica: Señalar si hay persistencia de la infección pese al tratamiento, con la consecuente necesidad de otra intervención o de un cambio en el tratamiento antibiótico
  - e. Alta voluntaria: Señalar en caso de que el paciente a pesar de no haber terminado el tratamiento y de continuar con el proceso infeccioso decide voluntariamente terminar su hospitalización
- 10. Muerte por cualquier causa:** Muerte del paciente durante el tiempo de seguimiento atribuida o no a la infección

**Variables de colonización del personal de atención:**

- 1. Colonización actual:** Aislamiento de *S. aureus* resistente a metilina, enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido o cualquier otro bacilo Gram negativo productor de carbapenemasas, a partir de las muestras de tamización tomadas por el equipo investigador durante el seguimiento
- 2. Bacteria aislada:** Género, especie y mecanismo de resistencia a betalactámicos de la bacteria aislada a partir del sitio de colonización
- 3. Sitio de colonización:** Sitio corporal a partir del cual se obtuvo aislamiento bacteriano: Manos o fosas nasales

**Información microbiológica y molecular:**

1. **Perfil de sensibilidad:** Resultado del antibiograma reportado por el laboratorio
2. **Patrón electroforético:** Pulsotipo y relación genética determinada por el coeficiente de similitud de Dice
3. **Tipo de secuencia:** Tipo de secuencia obtenida por alineamiento con las bases de datos pubMLST o del Instituto Pasteur
4. **Betalactamasa de espectro extendido detectada (BLEE):** Amplificación y tipo de betalactamasa detectada por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el bacilo Gram negativo aislado: CTX-M, TEM o SHV
5. **Carbapenemasas:** Amplificación y tipo de carbapenemasa detectada por PCR: KPC, VIM, IMP, NDM u OXA-48
6. **Presencia del gen *mecA*:** Amplificación por PCR del gen *mecA* en *S. aureus*
7. **Presencia del gen *nuc*:** Amplificación por PCR del gen *nuc* específico de especie de *S. aureus*
8. **SCCmec:** Tipo de cassette cromosómico que contiene el gen *mecA*
9. **Transferabilidad:** Capacidad in vitro de transmisión del plásmido que contiene una betalactamsas a una cepa receptora

#### ANEXO 4: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Número	Nombre	Definición	Naturaleza y nivel de medición			Unidad de medida
<b>Variables independientes (Objetivos 1, 2 y 3)</b>						
<b>1</b>	<b>Colonización actual</b>	Aislamiento de <i>S. aureus</i> sensible o resistente a meticilina, enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido u otro bacilo Gram negativo resistente a carbapenémicos, a partir de las muestras de tamización tomadas por el equipo investigador durante el seguimiento	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	<p>0. No</p> <hr/> <p>1. Sí</p>
<b>2</b>	<b>Bacteria aislada</b>	Género, especie y mecanismo de resistencia a betalactámicos de la bacteria aislada a partir de la tamización	Cualitativa	Nominal	Politómica	<p>1. <i>S. aureus</i> resistente a meticilina</p> <hr/> <p>2. Enterobacteria ESBL +</p> <hr/> <p>3. Enterobacteria carbapenemasa +</p> <hr/> <p>4. BGN-NF carbapenemasa +</p>
<b>3</b>	<b>Sitio de colonización</b>	Sitio corporal a partir del cual se obtuvo aislamiento bacteriano	Cualitativa	Nominal	Politómica	<p>1. Fosas nasales</p> <hr/> <p>2. Piel</p> <hr/> <p>3. Intestino</p>



4	Unidad renal previa	Estancia en unidad de diálisis diferente a la actual en los 6 meses previos.	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
5	Fecha de ingreso a la unidad de	Fecha en la cual el paciente ingresó a la unidad de diálisis actual	Cualitativa	Nominal		dd/mm/aaaa
6	Número de silla	Número que identifica la silla en unidad de diálisis en la que el paciente recibe siempre las sesiones de diálisis	Cuantitativa	Discreta	Intervalo	Número
7	Historia de infección o colonización	Infección o colonización en cualquier sitio corporal por bacterias identificadas durante los tres meses previos al diligenciamiento del formulario	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
8	Enfermedad des de base	Historia de una enfermedad de base en el último año	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
9	Tipo de comorbilidades	Tipo de enfermedad(es) presentadas en el último año	Cualitativa	Nominal	Politómica	1. Tumor maligno de órgano sólido
						2. Malignidad hematológica
						3. EPOC
						4. Fibrosis quística
						5. Infección VIH-sida
						6. Diabetes mellitus

						7. Enfermedad del tejido conectivo
						8. Falla cardíaca
						9. Enfermedad coronaria
						10. Demencia
						11. Enfermedad arterial periférica
						12. Hepatopatía crónica
						13. Osteomielitis crónica
<b>10</b>	<b>Trasplante de órgano sólido</b>	Antecedente de trasplante de órgano sólido	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
<b>11</b>	<b>Órgano trasplantado</b>	Órgano sólido trasplantado	Cualitativa	Nominal	Politémica	1. Riñón
						2. Corazón
						3. Pulmón
						4. Hígado
<b>12</b>	<b>Viaje reciente</b>	Historia de viaje internacional en los seis meses previos a la toma de la muestra	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
<b>13</b>	<b>Dieta vegetariana</b>	Tipo de dieta en la que no se consume ningún tipo de cárnico de origen animal	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
<b>14</b>	<b>Consumo de pollo y aves</b>	Número de veces a la semana que consume carne de pollo u otras aves	Cuantitativa	Discreta	Razón	Número

15	Consumo carne de cerdo	Número de veces a la semana que consume carne de cerdo	Cuantitativa	Discreta	Razón	Número
16	Agua para el consumo	Agua utilizada para el consumo diario	Cualitativa	Nominal	Politómica	1. Directamente del grifo 2. Hervida 3. Envasada 4. Otra
17	Uso compartido de implementos de aseo	Compartir permanentemente con cualquier persona que conviva en la misma casa, al menos uno de los siguientes implementos: toalla corporal, jabón de baño o cepillo de dientes	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No 1. Sí
18	Comuna	Comuna en la que se encuentra el lugar de residencia del paciente	Cualitativa	Nominal	Politómica	1. Barrio Popular 2. Santa Cruz 3. Manrique 4. Aranjuez 5. Castilla 6. Doce de Octubre 7. Robledo 8. Villa Hermosa 9. Buenos aires 10. La Candelaria 11. Laureles-Estadio 12. La América 13. San Javier 14. El Poblado 15. Guayabal 16. Belén

19	<b>Barrio</b>	Barrio en el cual reside el paciente	Cualitativa	Nominal		Nombre del barrio
20	<b>Estrato</b>	Estrato socioeconómico referido en la cuenta de servicios	Cualitativa	Nominal	Ordinal	1. Uno
						2. Dos
						3. Tres
						4. Cuatro
						5. Cinco
						6. Seis
21	<b>Habitantes en la vivienda</b>	Número total de personas que habitan en la misma vivienda	Cuantitativa	Discreta	Razón	Número
22	<b>Personas por habitación</b>	Número de personas que habitan en la vivienda sobre el total de habitaciones	Cuantitativa	Discreta	Razón	Número
23	<b>Acueducto</b>	Suministro de agua potable por parte de la empresa de servicios públicos	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
24	<b>Alcantarillado</b>	Sistema de tuberías para el desecho de residuos sólidos	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
25	<b>Mascotas</b>	Presencia en la misma casa de al menos una mascota: perro, gato u otro	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí

26	Acceso vascular	Acceso vascular para hemodiálisis.	Cualitativa	Nominal	Politémica	1. Fístula arterio-venosa
						2. Catéter de diálisis temporal
						3. Catéter de diálisis permanente
						4. Injerto vascular
27	Antecedente de cirugía	Historia de intervención quirúrgica bajo anestesia general	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
28	Estancia en un lugar cuidado prolongado	Historia de internación en lugar de cuidado prolongado (ancianato, asilo, hogar de paso) durante más de dos días	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
29	Servicios medicina domiciliaria	Historia de servicio de medicina domiciliaria para aplicación de medicamentos parenterales	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
30	Terapias inmun		Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No

		Exposición a tratamientos que reducen o suprimen la respuesta inmune				1. Sí
31	Tipo de terapias inmunosupresora	Tipo de terapia inmunosupresora	Cualitativa	Nominal	Politómica	1. Quimioterapia 2. Esteroides sistémicos 3. Inmunomoduladores
32	Presencia de dispositivos médicos invasivos	Presencia o no de dispositivos que irrumpen las barreras naturales o presencia de instrumentos externos que permanezcan en el paciente	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No 1. Sí
33	Tipo de dispositivo médico invasivo	Tipo de dispositivo médico presente	Cualitativa	Nominal	Politómica	1. Intubación endotraqueal o colostomía 2. Nutrición parenteral 3. Nutrición enteral 4. Colostomía 5. Sonda vesical permanente
34	Uso de antibióticos	Utilización de cualquier antibiótico sistémico (oral o parenteral)	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No 1. Sí
35	Grupo de		Cua	No	Poli	1. Penicilinas

		Grupo de antibiótico utilizado			<ul style="list-style-type: none"> <li>2. Monobasctámicos</li> <li>3. Piperacilina/Tazobactam</li> <li>4, Penicilinas/inhibidores</li> <li>5. Carbapenémicos</li> <li>6. Cefalosporinas 1ra</li> <li>7. Cefalosporinas 2da</li> <li>8. Cefalosporinas 3ra</li> <li>9. Cefalosporinas 4ta</li> <li>10. Glicopéptidos</li> <li>11. Lipopéptidos</li> <li>12. Oxazolidinonas;</li> <li>13. Aminoglicósidos</li> <li>14, Macrólidos</li> <li>15. Linxosamidas</li> <li>16. fluoroquinolonas</li> <li>17. Rifamicinas</li> <li>18. Sulfonamidas</li> <li>19. Tetraciclinas</li> <li>20. Polimixinas</li> </ul>
36	<b>Colonización conviviente</b>	Colonización en al menos un conviviente del paciente por una bacteria resistente a betalactámicos	Cualitativa	Nominal	Dicotómica <ul style="list-style-type: none"> <li>0. No</li> <li>1. Sí</li> </ul>
37	<b>Bacteria aislada</b>	Género, especie y mecanismo de resistencia a betalactámicos de la bacteria aislada a partir del conviviente	Cualitativa	Nominal	Politómica <ul style="list-style-type: none"> <li>1. <i>S. aureus</i> resistente a meticilina</li> <li>2. Enterobacteria ESBL +</li> <li>3. Enterobacteria carbapenemasa +</li> </ul>

						4. BGN-NF carbapenemasa +
38	Aislamiento bacteriano ambiental	Crecimiento de una bacteria resistente a betalactámicos a partir de la silla o el equipo de diálisis utilizado por el paciente	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
39	Bacteria ambiental	Género, especie y mecanismo de resistencia a betalactámicos de la bacteria aislada a partir de la tamización	Cualitativa	Nominal	Politómica	1. <i>S. aureus</i> resistente a meticilina
						2. Enterobacteria ESBL +
						3. Enterobacteria carbapenemasa +
						4. BGN-NF carbapenemasa +
40	Síntomas gastrointestinales	Diarrea (más de tres deposiciones acuosas en un día) en el último mes	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
<b>Variables dependientes (Objetivos 5 y 6)</b>						
1	Infección		Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No



		Evidencia clínica de síntomas y confirmación por laboratorio de aislamiento microbiológico, diagnosticada por un médico y que amerite tratamiento antibiótico sistémico (oral o parenteral)				1. Sí
2	<b>Fecha de diagnóstico clínico</b>	Fecha en la cual el médico hace la presunción diagnóstica del proceso infeccioso actual	Cualitativa	Nominal		dd/mm/aaaa
3	<b>Bacteria aislada</b>	Género, especie y mecanismo de resistencia a betalactámicos de la bacteria aislada causante de la infección	Cualitativa	Nominal	Politómica	1. <i>S. aureus</i> resistente a meticilina 2. Enterobacteria ESBL positivo 3. Enterobacteria carbapenemasa + 4. BGN-NF carbapenemasa + 5. Otra
4	<b>Infección polimicrobiana</b>	Evidencia clínica y por laboratorio de crecimiento de dos o más bacterias sensibles o resistentes a betalactámicos a partir de la misma muestra	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No 1. Sí

5	<b>Muestra</b>	Muestra enviada al laboratorio y a partir de la cual se obtuvo el crecimiento de la bacteria causante de la infección	Cualitativa	Nominal	Politémica	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Lavado broncoalveolar</li> <li>2. Sangre</li> <li>3. Piel y tejidos blandos</li> <li>4. Líquido peritoneal</li> <li>5. Orina</li> <li>6. Otra</li> </ol>
6	<b>Tipo de infección</b>	Infección definida por el médico tratante una vez confirmado el crecimiento de la bacteria por parte del laboratorio	Cualitativa	Nominal	Politémica	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Neumonía</li> <li>2. Bacteriemia</li> <li>3. Bacteriemia asociada a catéter</li> <li>4. Infección de sitio operatorio</li> <li>5. Infección intrabdominal</li> <li>6. Infección de piel y tejidos blandos</li> <li>7. Infección de tracto urinario</li> <li>8. Infección de tracto urinario asociados a sonda vesical</li> <li>9. Otra</li> </ol>
7	<b>Tratamiento</b>	Antibiótico administrado como tratamiento dirigido después del reporte del crecimiento bacteriano dado por el laboratorio	Cualitativa	Nominal	Politémica	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Penicilinas</li> <li>2. Monobactámicos</li> <li>3. Piperacilina/Tazobactam</li> <li>4. Otras penicilinas/inhibidores</li> <li>5. Carbapenémicos</li> <li>6. Cefalosporinas 1ra generación</li> </ol>

						7. Cefalosporinas 2da generación
						8. Cefalosporinas 3ra generación
						9. Cefalosporinas 4ta generación
						10. Glicopéptidos
						11. Lipopéptidos
						12. Oxazolidinonas;
						13. Aminoglicósidos
						14, Macrólidos
						15. Linxosamidas
						16. Quinolonas y fluoroquinolonas
						17. Rifamicinas
						18. Sulfonamidas
						19. Tetraciclinas
						20. Polimixinas
<b>8</b>	<b>Necesidad de hospitalización</b>	Necesidad de ingreso a sala de hospitalización para tratamiento o complicación de la infección actual	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
<b>9</b>	<b>Fecha del alta</b>	Fecha en que el paciente es dado de alta de la institución hospitalaria	Cualitativa	Nominal		dd/mm/aaaa
<b>10</b>	<b>Total estancia hospitalaria</b>	Tiempo transcurrido en días desde la fecha de ingreso hasta la fecha de alta	Cuantitativa	Continua	Razón	Número
<b>11</b>	<b>Desenlace al final de hospitalaria</b>		Cualitativa	Nominal	Politémica	1. Curación
						2. Mejoría

		Estado del paciente frente al proceso infeccioso haya estado o no hospitalizado				3. Muerte
						4. Falla terapéutica
						5. Alta voluntaria
12	Muerte por cualquier causa	Muerte por cualquier causa durante el periodo de seguimiento	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
13	Estado de colonización al final del seguimiento	Estado de colonización del paciente al desenlace o al final del seguimiento	Cualitativa	Nominal	Politémica	1. Portador persistente
						2. Portador recurrente
						3. No portador
						4. Portador mixto
						2. Fosas nasales
<b>Variables de ajuste (Objetivos 5 y 6)</b>						
1	Edad	Edad en años cumplidos hasta el día del ingreso al estudio	Cuantitativa	Continua	Razón	Número
2	Sexo	Sexo biológico femenino o masculino	Cualitativa	Nominal	Dicotómico	0. Mujer
						1. Hombre

3	Tiempo en hemodiálisis	Tiempo en meses cumplidos desde el inicio de la terapia de reemplazo renal hasta el momento del ingreso al estudio	Cuantitativa	Continua	Razón	Número
4	Índice de comorbilidad de Charlson	Índice de comorbilidad calculado sumando los puntajes obtenidos según la presencia de las enfermedades presentes en el paciente	Cuantitativa	Continua	Intervalo	Número
5	Hospitalizaciones previas	Número de veces que el paciente ha sido hospitalizado por más de 2 días	Cuantitativa	Discreta	Razón	Número
6	Estancia en unidad de cuidados intensivos	Hospitalización en una unidad de cuidado intensivo	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No
						1. Sí
<b>Variables microbiológicas y moleculares (Objetivo 4)</b>						
1	Perfil de sensibilidad	Resultado del antibiograma reportado por el laboratorio	Cualitativa	Nominal	Politémica	1. Sensible
						2. Intermedio
						3. Resistente

2	Patrón electroforético	Pulsotipo y relación genética determinada por coeficiente de similitud de Dice	Cualitativa	Nominal		Pulsotipo o grado de relación genética
3	Tipo de secuencia	Tipo de secuencia obtenida por alineamiento con las bases de datos pubMLST o del Instituto Pasteur	Cualitativa	Nominal		Clon reportado en la base de datos
4	ESBL	Amplificación por PCR de una betalactamasa de espectro extendido	Cualitativa	Nominal	Dicotómicas	0. No 1. Sí
5	Tipo ESBL	Tipo de betalactamasa detectada por PCR	Cualitativa	Nominal	Politémica	1. CTX-M 2. SHV 3. TEM 4. Otra
6	Carbapenemasa	Amplificación por PCR de carbapenemasas	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No 1. Sí
7	Tipo de carbapenemasa	Tipo de carbapenemasa detectada por PCR	Cualitativa	Nominal	Politémica	1. KPC 2. OXA-48 3. NDM 4. VIM 5. IMP 6. Otra
8	Gen <i>mecA</i>	Amplificación por PCR del gen <i>mecA</i> de resistencia a meticilina en <i>S. aureus</i>	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No 1. Sí

9	Gen <i>nuc</i>	Amplificación por PCR del gen <i>nuc</i> específico de especie de <i>S. aureus</i>	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No 1. Sí
10	SCCmec	Tipo de cassette cromosómico que contiene el gen <i>mecA</i>	Cualitativa	Nominal	Politómica	1. Tipo I 2. Tipo II 3. Tipo III 4. Tipo IVa 5. Tipo IVc 6. Otro
11	Transferencia	Capacidad in vitro de transmisión del plásmido que contiene la betalactamasa a una cepa receptora	Cualitativa	Nominal	Dicotómica	0. No 1. Sí

## AGRADECIMIENTOS

A mi esposo, mis hijas y mis padres; por su acompañamiento incondicional durante todo mi proceso de formación, por su comprensión y paciencia en los momentos largos de estudio y escritura.

A mi directora de tesis y a todos los miembros del comité tutorial, por sus recomendaciones, sugerencias y revisiones para mi formación académica y como persona.

A las estudiantes de maestría, en especial Lorena Salazar y Daniela Ospina, por su apoyo en la toma y procesamiento de muestras.

A la Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana y al Grupo Microba, por ser cómplices de este trabajo desde su gestación.

A la unidad renal Fresenius Medical Care del Hospital San Vicente Fundación, por la aprobación del proyecto y por el apoyo logístico para su ejecución.

A Luz Adriana Patiño y Ana Lucía Arbeláez por el almacenamiento de aislados bacterianos obtenidos a partir de hemocultivos.

Al profesor Álvaro Muñoz por su apoyo en el análisis e interpretación de resultados aparentemente complejos.

A los pacientes incluidos en el estudio, por su participación y disposición durante la investigación. Ellos son la razón de este estudio y quienes son los directamente beneficiados de los resultados obtenidos.

A todas las personas que con su ayuda hicieron posible la obtención de estos resultados y su aplicación en una población altamente susceptible al desarrollo de infecciones bacterianas.

A Dios, por darme fuerzas en los momentos más difíciles...