

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Medikuntzako Gradua / Grado en Medicina

Enterobakterio NDM-ekoizleen persistentzia bizigabeko gainazaletan

Egilea /Autor:
Ibai Hernández Morrás
Zuzendaria / Director/a:
Elena Sevillano Peña

ABSTRACT

COVID-19aren pandemiaren testuinguruan tratamendu antibiotikoen erabilera handitzeak bakterio erresistenteen garapena bultzatu du eta mundu osoan enterobakterio karbapenemasa-ekoizleengatiko gaininfekzioak deskribatu dira ZIUetan COVID-19dun pazienteetan. Ospitaletako gainazalak mikroorganismo horien transmisio-foku posibletzat jo izan dira. Lan honen helburua enterobakterio NDM-ekoizleen bizigabeko gainazalen gaineko biziraupena aztertzea eta baldintza desiragaitzetan biziraun ostean NDM karbapenemasaren genea mantentzen zuten ikustea izan zen. Horretarako, Guruzetako Unibertsitate Ospitaleko ZIUko gainazaletatik isolatutako bost enterobakterio NDM-ekoizle eta kontrol moduan bi enterobakterio antibiotikoekiko sentikor azertu ziren. Anduien biziraupena 28 egunez azertu zen paperan, oihalean, plastikoen, metalean eta kristalean inokulatuz. Zelulen berreskurapena 0., 1., 2., 5., 7., 14., 21. eta 28. egunetan egin zen, ostean UFCen kontaketa burutzeko. Ondoren, 28 egunak igarota bizirik jarraitzen zuten anduietan *bla_{NDM-1}* karbapenemasa genearen detekzioa PCR bidez egin zen, oraindik mantentzen zuten aztertzeko. Enterobakterio NDM-ekoizleen eta enterobakterio sentikarren biziraupen-tasen arteko ezberdintasunak nabariak izan ziren. Bost andui erresistenteen artean, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea* spp. izan ziren biziraupen-tasa altuenak erakutsi zituztenak, 28 egun baino gehiago iraun baitzuten bizirik paperan, oihalean eta plastikoen. PCR bidez, *bla_{NDM-1}* karbapenemasa genea andui erresistente guztietan detektatu zen 28 egun igaro eta gero. Lan honek adierazten du ospitaletako gainazalak infekzio-foku konstante izan daitezkeela mikroorganismo erresistenteen persistentziagatik, eta agerian uzten du mikroorganismo erresistenteen biziraupenari buruz ikertzen jarraitzeko eta horiei aurre egiteko metodo berriak garatzeko premia.

AURKIBIDEA

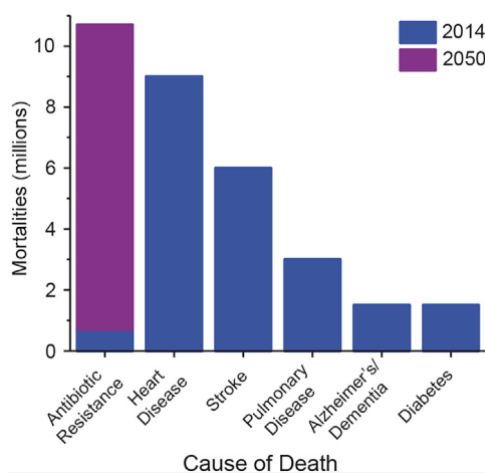
1. Sarrera.....	1
1.1. Antibiotikoekiko erresistentziak.....	1
1.1.1. COVID-19aren eragina antibiotikoekiko erresistentzien gain....	3
1.1.2. Antibiotikoekiko erresistentzia-mekanismoak.....	6
1.1.3. β -laktamasak.....	7
1.1.3.1. New Delhi metalo- β -laktamasak (NDM)	8
1.2. Bakterioen persistentzia bizigabeko gainazaletan.....	9
1.2.1. Bakterio NDM-ekoizleen persistentzia.....	11
2. Helburuak.....	12
3. Material eta metodoak.....	13
3.1. Aztertutako anduiak.....	13
3.2. Andui kontrolak.....	13
3.3. Bakterioen biziraupenaren azterketa.....	13
3.3.1. Inokuluen prestaketa eta materialen inokulazioa.....	14
3.3.2. Zelulen berreskurapena.....	14
3.4. <i>bla</i> _{NDM-1} karbapenemasa genearen detekzioa.....	14
4. Emaitzak.....	15
4.1. Bakterioen biziraupenaren azterketa.....	15
4.2. <i>bla</i> _{NDM-1} karbapenemasa genearen detekzioa.....	20
5. Eztabaida.....	21
6. Ondorioak.....	24
7. Bibliografia.....	25

1. SARRERA

1.1. ANTIBIOTIKOEKIKO ERRESISTENTZIAK

XX. mendean, farmako antimikrobiarren aurkikuntzak sekulako iraultza suposatu zuen infekzioen tratamenduan eta, orokorrean, medikuntzan. Izan ere, gaur egun, antibiotikoak medikuntzako baliabide garrantzitsuenetarikoak dira, eguneroko prozeduretan erabiltzen direnak. Zoritxarrez, azkenaldiko bakterioen erresistentzia-garapenen gorakadak estrategia terapeutiko honen biziraupena kolokan jartzen du, gaixo kritikoen sendaketen arrakasta arriskuan jarriz. Hain da larria egoera non Munduko Osasun Erakundeak antibiotikoekiko erresistentziak XXI. mendeko osasun publikoko hiru mehatxu garrantzitsuenetako bat bezala izendatu dituen, “osasun globalaren segurtasunaren aurkako mehatxu bat da, gobernuen eta gizartearen eskuhartzea eskatzen duena” esanez (1).

Izan ere, estimatzen da antimikrobiarrekiko erresistentziak urtero 700.000 hildako eragiten dituela globalki (25.000 Europar Batasunean), eta horri aurre egiteko estrategia adostuak sortu ezean etorkizunean milioika pertsona hilko dituela urtero kalkulatzen da (2), kardiopatiak baino heriotza-kausa ohikoagoa bihurtuz, 2050. urterako 10 milioi hildako inguru eragingo lituzkeelarik (3).



1. **Irudia.** 2050ean antibiotikoekiko erresistentziak munduan eragingo dituen heriotza estimatuak, 2014ko heriotza-kausa prebalenteekin konparatuz (4).

Antibiotikoen aroaren goraldiarekin, horien gainerabilpenak eta preskripzio zein kontsumo desegokiak patogeno multierresistenteen agerpen masibo azkarra bultzatu dute, eta erresistentzia horiek pazienteen morbilitatea, hilkortasuna, ospitaleratze-aldia eta gastu publikoa handitzen dituzte. Bakterio Gram-positiboen artean, *Staphylococcus aureus* (SARM) eta *Mycobacterium tuberculosis* multierresistentea, eta Gram-negatiboen artean, karbapenemasen eta espektrio zabaleko β -laktamasen (ESBL) ekoizle diren bakterioak, osasun-arazo global handi bat bihurtu dira XXI. mendean (5). Konkrétuki, **karbapenemekiko erresistenteak diren enterobakterioak** mehatxu kritiko bezala sailkatu dituzte bai MOEk baita CDCk ere.

Bacteria and Fungi Listed in the 2019 AR Threats Report

Urgent Threats	Serious Threats	Concerning Threats
<ul style="list-style-type: none"> • Carbapenem-resistant <i>Acinetobacter</i> • Candida auris • Clostridioides difficile • Carbapenem-resistant Enterobacterales • Drug-resistant <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Drug-resistant <i>Campylobacter</i> • Drug-resistant <i>Candida</i> • ESBL-producing Enterobacterales • Vancomycin-resistant <i>Enterococci</i> (VRE) • Multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> • Drug-resistant nontyphoidal <i>Salmonella</i> • Drug-resistant <i>Salmonella</i> serotype Typhi • Drug-resistant <i>Shigella</i> • Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) • Drug-resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> • Drug-resistant Tuberculosis 	<ul style="list-style-type: none"> • Erythromycin-Resistant Group A <i>Streptococcus</i> • Clindamycin-resistant Group B <i>Streptococcus</i> <p>Watch List</p> <ul style="list-style-type: none"> • Azole-resistant <i>Aspergillus fumigatus</i> • Drug-resistant <i>Mycoplasma genitalium</i> • Drug-resistant <i>Bordetella pertussis</i>

2. **Irudia.** 2019ko antibiotikokiko erresistentzia-mehatxuaren zerrendako bakterio eta ondoak (CDC, 2019).

Izan ere, enterobakterioak ospitaleetan infekzioak maizen eragiten dituzten agente infekziosoetako bat dira. Beste mikroorganismo batzuen aldean antibiotikokiko erresistentzia-mekanismoak eskuratzeko duten erraztasunaz gain, bakterio horiek gure mikrobiotan eta ospitaleko gordailu naturalean egoteak pazienteak bide endogeno edota exogenotik sarri infektatzea eragiten du (6).

Klinikan erabiltzen diren antibiotiko ia guztien aurkako erresistentziak dokumentatu dira bakterioetan. Zehazki, erresistentzia anizkoizdun bakterio Gram-negatiboek gero eta arrisku handiagoa eragiten dute, bai ospitaletan bai komunitatean. Bakterio horiek antibiotikoen aurka garatu dituzten mekanismoak dira, besteak beste, farmakoen itulekuaren mutazioa, ponpaketa-sistemen bidezko kanporaketa eta antibiotikoen degradazio entzimatikoa. Gainera, entzima horiek kodetzen dituzten geneak bakteriotik bakteriora konjugazio prozesu batean erraz transmititu ahal izateak nabarmen lagundu du erresistentzia horien hedapenean (7, 8).

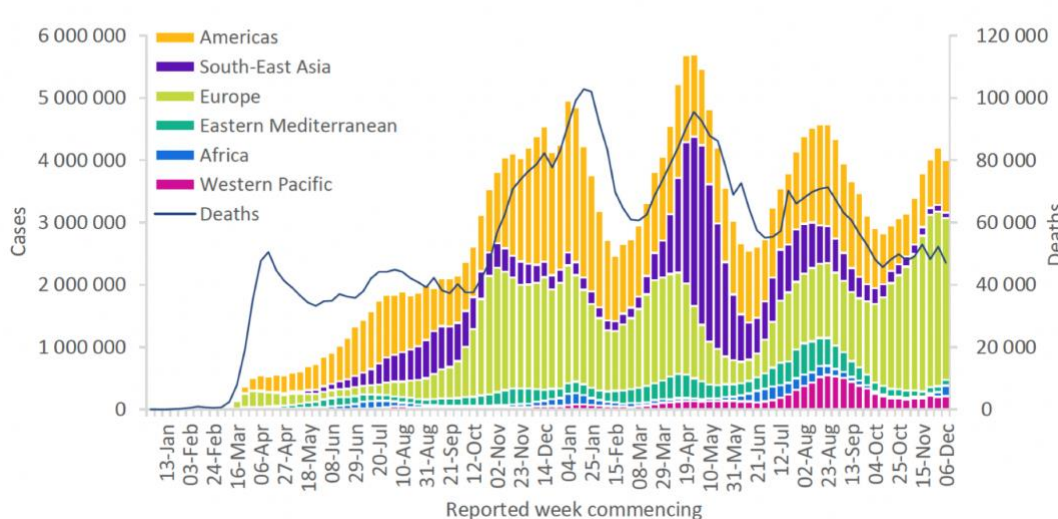
Bakterioek hiru bide nagusi dituzte material genetiko berria modu horizontalean lortzeko: transformazioa (DNA biluziaren inkorporazioa), transdukzioa (fagoen bidezkoa), eta konjugazioa (plasmidoen bidez) (8).

Gene-transferentzia horizontal moten artean, konjugazioa da ospitaletako erresistentzien gorakadan maizen inplikaturik dagoena. Konjugazioa gene-transferentziarako metodo oso eraginkor bat da, bakterio arteko kontaktua barne hartzen duena, eta antibiotikoekin tratamenduan dauden pazienteen urdail-hesteetako traktuan abiadura handian gerta daitekeena (8). Orain, COVID-19 pandemiarekin, milioika pazienteek egonaldi luzeak egin dituzte ospitaleetan ingresatuta, bakterioen arteko gene-transferentzia horizontala erraztuz. Gainera, paziente askok gaininfekzioak jasan dituzte, antibiotikoekin tratatu behar izan direnak, eta honek ere erresistentzien gorakadan lagundu du (9).

1.1.1. COVID-19aren eragina antibiotikoekiko erresistentzien gain

Koronabirus gaixotasunaren (COVID-19) pandemiak, SARS-CoV-2-ak eraginda, mundu osoko milioika pertsonen bizimodua aldatu du 2019ko abenduan lehenengo aldiz identifikatu zenetik (4). 2021eko abenduaren 12ko datarekin, mundu osoan COVID-19 gaitzaren kasu konfirmatuak ia 269 milioi ziren, eta eragindako heriotzak ia 5,3 milioi (10).

COVID-19 cases reported weekly by WHO Region, and global deaths, as of 12 December 2021**



3. **Irudia.** COVID-19 kasuak eta heriotzak, MOEren erregioa, 2021eko abenduaren 12an (MOE, 2021).

COVID-19aren pandemiak antimikrobiarren preskripzioan eta antimikrobiarrekiko erresistentzian eduki duen inpaktua gai oso eztabaidatua bihurtzen ari da (9), eta autore batzuek COVID-19aren aurretik jada antibiotikoekiko erresistentzien arazoari “pandemia isila” deitzen zioten (4).

Pandemiaren hasieran, gaixotasunarekiko esperientzia- eta datu-faltak antimikrobiarren preskripzioen areagotzea eragin zuen. Gainera, pandemian zehar gaininfekzio-kasuen igoera nabarmendu da, batez ere ZIUetan luzaroan ingresatuta egon ziren COVID-19dun pazienteengan. Infekzio horiek maiz mikroorganismo multierresistenteek eragin dituzte, espektro zabaleko farmako antimikrobiarren beharra izanez, batzuetan ere zeftazidima-abibaktam bezalako farmako merkaturatuberrak ere erabili direlarik. Beraz, ospitaleen eta batez ere ZIUen betetzeak infekzioen kontrolerako neurriak eta antimikrobiarren erabileraren gainbegiratze-ekintzak askotan behar bezala ez betetzea ekarri du (9, 11).

Halaber, ikerketek diote COVID-19agatik hildako paziente ospitalizatuen erdia inguru bakterio eta onddo erresistenteengatik gaininfekzioei leporatu diezaiokegula (2). Esaterako, New Yorkeko ospitale bateko ZIUan COVID-19 larriarekin ingresaturiko 13 pazienteek enterobakterio karbapenemasa-ekoizleengatik gaininfekzioak hartu

zituzten, haien artean *Klebsiella pneumoniae* KPC-ekoizlea eta *Enterobacter cloacae* NDM-ekoizlea. 13 pazienteetatik 5 hil egin ziren (12).

Espanian, Ramón y Cajal ospitalean burututako kasu-kontrol ikerketa batean, COVID-19 gaitzarekin ingresaturiko pazienteen enterobakterio karbapenemasa-ekoizleengatiko gaininfekzioak aztertu nahi izan zituzten. Horretarako, pandemiaren lehenengo olatuan zehar zentroan ingresaturiko 7048 pazienteengandik, enterobakterio karbapenemasa-ekoizleengatiko infekzioa aurkeztu zuten 54 pazienteak hartu zituzten: 30 kasu (COVID-19dunak) eta 24 kontrol (COVID-19 gabeak). COVID-19dun pazienteengan altuagoa izan zen bai gaininfekzio horien maiztasuna, baita horiengatiko hilkortasun-tasa ere. 54 pazienteetan isolatutako bakterio maizenak hurrengoak izan ziren: *K. pneumoniae* (80.8%), *Serratia marcescens* (11%), and *Enterobacter cloacae* (4.1%) (13).

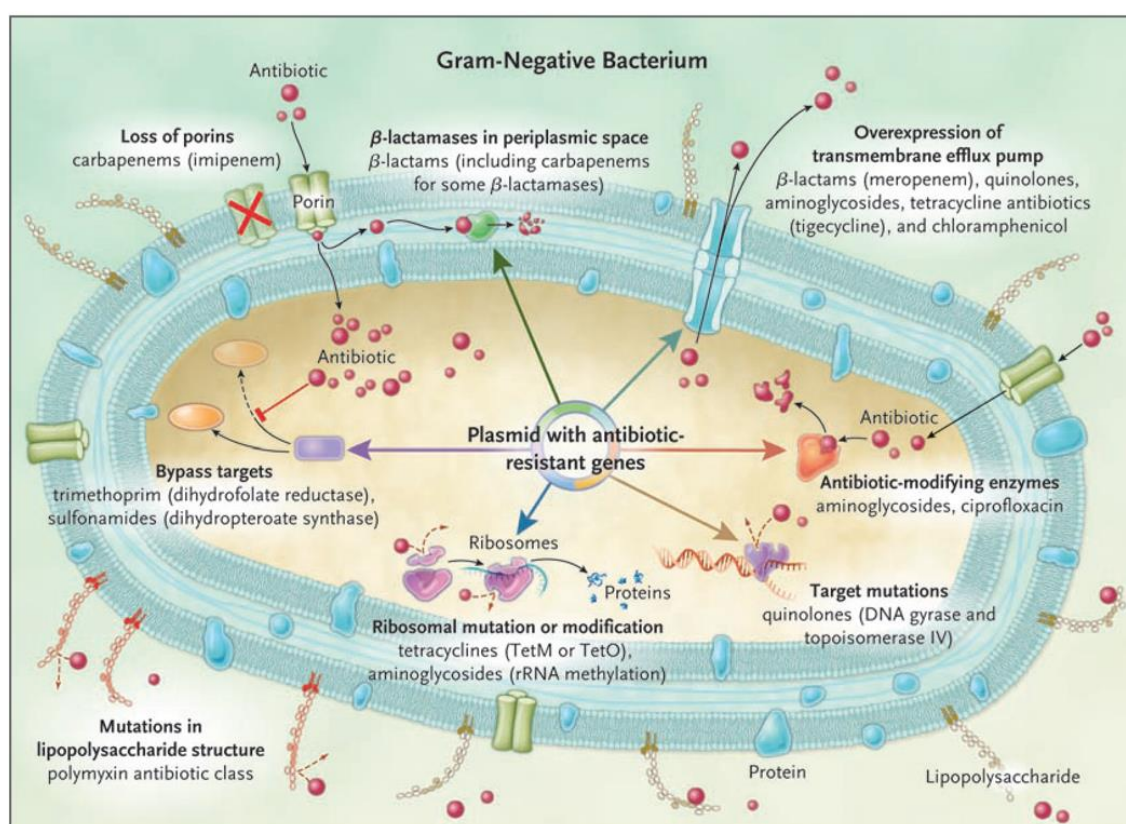
Espanian kasu horiek eman diren bezala, Euskadin ere egoera oso antzekoa izan da. Horregatik, lan honetan aztertu ziren anduiak Gurutzetako Ospitaleko ZIUtik isolaturiko bakterio Gram negatiboak ziren, aurrerago ikusiko den bezala.

Mikroorganismo antimikrobiar-erresistenteengatiko infekzioak normalean ospitaleetan eta zahar-egoitzetan ematen dira, non pazienteen arteko transmisioa erraztu daitekeen sistema immunea erasopean izateagatik (2, 14). Izan ere, farmako antimikrobiarren erabilera altua, paziente oso gaixoak eta mikroorganismoen inbasio konstantea batera emateak nabarmen errazten du erresistentzien garapena eta ingurune ideala sortzen du patogeno erresistenteen hedapenerako eta erresistentziak kodetzen dituzten geneen transferentzia horizontalerako (2).

Horrela, baliteke oraingo antibiotikoen erabilera handiak epe laburrera COVID-19en hilkortasuna murriztea baina epe luzera erresistentziengatiko hilkortasuna handitzea. Beraz, COVID-19 gaitzaren aurka egiteko hainbesteko urgentziarekin martxan jarri diren elkarlan internazionalak tratamendu berriak, txertoak eta test azkarrak sortzeko behar-beharrezkoak dira ere antimikrobiarren erresistentzien mehatxuari aurre egiteko. Beste era batera esanda, pandemiari aurre egiteko erantzun arinak agerian uzten du erresistentziak konbatitzeko estrategiak ere bizkorrago burutu zitezkeela (11).

1.1.2. Antibiotikoekiko erresistentzia-mekanismoak

Mikroorganismoek antibiotikoekiko erresistenteak izateko hainbat mekanismo garatu dituzte: bakterioaren ingurunearekiko adaptazioa, bakterio-penetrazioaren murrizketa (porinen alterazioaren edo ponpaketa-sistemen bidez), gune aktiboaren aldaketak (hori babestuz edo aldatuz), eta molekula antibiotiko beraren aldaketak, bai konposatua kimikoki aldatuz edo zuzenean molekula entzimen bidez suntsituz, esaterako, hidrolisia (7). Hurrengo irudian aipatutako mekanismoak ikus daitezke.



4. Irudia. Bakterio Gram-negatiboen erresistentzia-mekanismoak, eta bakoitzak afektatzen dituen antibiotikoak (15).

Aurreko mekanismoen artean, antibiotikoen hidrolisi entzimatikoa garrantzi handikoa da, antibiotikoa degradatzen delako. Gainera, entzima horiek kodetzen dituzten geneak plasmidoak bezalako elementu mugikorretan kokatuta egon daitezke, erresistentzia-mekanismo hau bakterioen artean hedatuz (7).

1.1.3. β -laktamasak

1940. urtean lehenengo aldiz deskribatu ziren β -laktamasak, penizilina merkaturatu baino urte bat goizago, baina euren existentziak milioika urte dituela frogatzen duen ebidentzia zientifikoa dago (7). β -laktamasen eboluzioak bi bide nagusi ditu: jada ezagunak ditugun entzima horien mutazio berrien agerpena eta egitura berri bat duten entzimen agerpena. β -laktamasen mutazio tasa altuak eta β -laktamasak kodetzen dituzten geneak elementu genetiko mugikorretan (EGM) kokatuta egoteak bakterio erresistenteen hedapen azkarra laguntzen du, eta, aipatu bezala, horrek mehatxu globala dakar. Horrela, zortzi β -laktamasa-generaino dituzten bakterioen aurkikuntza dokumentatua izan da (8).

β -laktamasek β -laktamen eraztunaren amida-lotura hidrolizatzen dute (7, 8, 16), hau da, antibiotiko guztien (penizilinak, zefalosporinak, karbapenemak eta monobaktamak) egiturazko elementu komuna. Entzimen “superfamilia” bat osatzen dute, gaur egun 2.000 kide baino gehiagok osatzen dutena. Suntsitzen duten konposatuaren arabera, penizilinasetan, zefalosporinasetan eta karbapenemasetan sailka daitezke. Euren aminoazido-sekuentzien homologiaren arabera, ordea, lau molekula klasetan banatzen ditu Ambler sailkapen-sistemak (1, 8): A, C eta D klaseetako entzimak serina-hidrolasak dira, eta B klasekoek bi zink-ioi dituzte haien gune aktiboan (1, 8, 16), horregatik deitzen dira metalo- β -laktamasak (MBL) (8).

A klaseko β -laktamasak ugariak dira, C klasekoek zefalosporinak suntsitzeko gaitasuna dute, D klasekoak egitura aldetik aldakortasun gehien dutenak dira, eta B klasea metalo- β -laktamasen (MBL) familia heterogeneoak osatzen du. MBLak, monobaktamak izan ezik, antibiotiko β -laktamiko guztiak hidrolizatzeko gai dira. Beraz, MBL aldaera berrien agerpenak eta serina-hidrolasekin batera (A, C eta D klaseak) espresatzeak antibiotiko β -laktamiko guztiekiko erresistenteak diren bakterioen existentzia eragiten du (1, 8). Hori dela eta, gero eta arazo larriagoa bihurtzen ari da MBLak espresatzen dituzten patogenoen aurkako antibiotiko berriak eratzea (8).

Gaur egun, bakterio Gram-negatiboek batez ere aurkezten duten karbapenemekiko erresistentzia mehatxu larria da (16). Izan ere, karbapenemak bakterio Gram-negatiboek eragindako infekzio larriak tratatzeko azken alternatiba terapeutikoa dira

(17). Erresistentzia hauen arrazoi ugariena metalobetalaktamasa entzimak dira, β -laktamiko ia guztiak hidrolizatzeko gai direnak, eta, gainera, gehienek merkaturatu dauden β -laktamasen inhibitzaileen aurrean ere (tazobaktam, esaterako) erresilientzia erakusten dute (16, 17). Karbapenemasa mota zehatz batzuek (Amblerren B klasea) MBL dute izena, metalo- β -laktamasak. Horien barruan VIM eta IMP motakoak izan dira detektatu diren talderik ohikoenak. 2008. Urtean, NDM talde berria deskribatu zen (New Delhi MBLak), hedapen global azkarra eduki duena (8, 16, 17).

1.1.3.1. New Delhi metalo- β -laktamasak (NDM)

Lehenengo New Delhi metalo- β -laktamasa, NDM-1, New Delhin ospitaleratuta zegoen paziente suediar batengandik isolatutako *Klebsiella pneumoniae* andui batean identifikatu zen 2008an (16, 17). Harrezkero, beste 28 NDM-aldiera aurkitu dira (16), 11 bakterio-familiako 60 espezie baino gehiagotan, gehienbat *Enterobacteriaceae* familiako patogeno nosokomialetan (17). bla_{NDM} geneak nagusiki *Enterobacteriaceae* familiako bakterioetan aurkitzen dira, zeintzuek normalean gizakien (eta beste animalien) hestea kolonizatzen duten. bla_{NDM} -en presentzia *Enterobacteriaceae* familiako hainbat espezieetan dokumentatu izanak iradokitzen du giza-hestea gene horien hedapenerako leku aproposa izan daitekeela ospitaletako pazienteetan (17).

Enterobacteriaceae familiako patogenoak maiz isolatzen dira kultibo klinikoetatik, eta horien artean *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. eta *Escherichia coli* daude, esaterako. Farmako antimikrobialarrekiko erresistentzien ikuspuntutik begira, *Enterobacteriaceae* familiako bakterioak bereziki garrantzitsuak dira komunitateko zein ospitaletako infekzioen kausa oso ohiko bat diren heinean (1).

NDMek, euren gune aktiboko zink-ioiekin β -laktamikoak hidrolizatzeko gai izateaz gain, beste ahalmen berezi bat dute, lipidazioa, alegia. Ikerketek erakutsi dute lipidazioa beste adaptazio-maila bat dela. Horrela, NDMdun bakterioek infekzioetan ohikoa den zink-gabeziaren aurrean ezohiko egonkortasun bat erakusten dute. Beraz, gaixoaren berezko erantzun immunearen ondorioz metalen ioiak bahituta gelditzen direnean bakterioak nutriente gabe utzi eta hiltzeko, NDMak espresatzen dituzten bakterioek bizirik jarraituko dute (16). Halaber, NDMak kodetzen dituzten geneak konjugazio-plasmidoetan aurkitzen dira, transposoien artean kokatuak, haien

hedapena izugarri erraztuz (17-19). Beraz, gene horiek inpaktu handia izan dute osasun-sisteman euren aktibitate eta egonkortasun entzimatiokoagatik, baita espezieetik espeziera igarotzeko gai izateagatik ere (16).

bla_{NDM} geneak bakterioen kromosometan aurkituak izan diren arren, gehienak plasmidoetan garraiatzen dira, esan bezala, haien barreiaduran rol garrantzitsua jokatzen duena. *Enterobacteriaceae* patogenoetan plasmido *bla_{NDM}*-eramaileen 20 erreplikoi mota aurkitu dira. Honek iradokitzen du plasmido batek *bla_{NDM}* ezberdinak eskuratu ditzakeela, eta *bla_{NDM}* geneen transferentzia horizontalaz arduratzen diren plasmido ugari daudela (19).

Praktika klinikoan, paziente berberetik isolatutako espezie ezberdinetako plasmido *bla_{NDM}*-eramaileak tipikoki egitura antzekoak izaten dituzte, zeinak agerian uzten duen plasmidoen garrantzia *bla_{NDM}* geneen hedapenean (19).

Orobat, erresistentzia anizkoizdun mikroorganismoek eragindako infekzioak orokorrean hilkorragoak izaten dira sentikorrek eragindakoak baino (1, 7, 20). Bereziki, andui NDM-positiboek hilkortasun-tasa altuak dituzten infekzio-sorta zabal bat eragin dezakete. NDM entzimadun anduien ondoriozko agerraldiak mundu osoan zehar informatu dira, kutsatutako fomiteak eta gainazalak iturri posiblea izanik (17).

1.2. BAKTERIOEN PERSISTENTZIA BIZIGABEKO GAINAZALETAN

Gaixotasun infekziosoen prebentziorako, funtsezkoa da transmisio-bideei buruzko ezagutza. Arnas bidezko, sexu-bidezko eta transmisio fekal-oralaz gain, gainazalen eta fomiteen bidezko patogenoen transferentziak funtsezko papera jokatzen du giza infekzio patogenikoetan, batez ere infekzio nosokomialetan. Horregatik, patogenoek gainazaletan duten biziraupenari buruzko informazioak eragin zuzena izan dezake neurri klinikoetan, higie-ne-jarraibideak eta desinfekzio-estrategiak barne (21).

Ospitaleetan, eskuekin kontaktu handia duten gainazalak sarritan infektatzen dira patogeno nosokomialekin, eta gurutze-transmisiorako bektore izan daitezke. Eskuen higie-nearen protokoloen betetze-tasak osasun-langileen artean % 50 ingurukoak dira. Eskuko higie-ne behar bezala ez betetzearen ebidentzia argi eta garbiaren ondorioz, gainazal kutsatuen arriskua ezin da baztertu. Ospitale barneko patogenoen transmisiorako bide nagusia osasun-langileen esku kutsatuen bidezkoa da (22). Costa

et al.-en arabera (2019), osasun-profesionalen eskuak gainazal bat ukitzuz kutsatzeko aukerak bikoitzak dira, paziente infektatu batekin kontaktu zuzena edukiz baino (23).

Mikroorganismo askok orduak bakarrik irauten dituzten bitartean, patogeno nosokomial arruntek egunak eta asteak iraun dezakete laborategiko baldintzetan, eta, horrela, etengabeko transmisio-iturria eratzen dute patogenoen inaktibazio-prozedura egokirik burutzen ez bada (21).

Ospitaleetako gainazalen tratamenduari buruzko jarraibide berriek patogeno nosokomialen transmisioa prebenitzeko garrantzitsuak diren parametro gehiago hartzen dituzte kontuan, hala nola zainketa-unitate mota edo espero den gainazal eta eskuen arteko kontaktuaren maiztasuna. Gainera, ospitale barneko patogeno batek azalera batean zenbat eta gehiago iraun, orduan eta luzaroago izan daiteke transmisio-iturri eta, horrela, paziente edo osasun-langile sentikor bat arriskuan jarri (22).

Biztanleria adineko eta immunogutxituarengan burutzen diren prozedura medikoen kopurua goraka doan heinean, hala gertatuko da ere horiekin lotutako infekzioen intzidentziarekin. Ingurugiroitiko kutsatzeak osasun-zainketei loturiko infekzioen kasu guztien % 25aren iturria dela kalkulatu da, eta beste % 20-40 batean osasun-langileen eskuak direla iturria uste da. Horrela, inguruneak infekzio-foku gisa duen garrantzia ezin da gutxietsi (23).

Bakterio patogenoek eragindako infekzioetako asko gaixoen ospitaleratzearekin lotuta daude. Zenbait infekzio larri eta hilkor ospitaleetan hartutako bakterioek eragiten dituzte. Infekzio horien artean *Enterobacter* eta *Klebsiella* generoetako espezieek eragindakoak daude, besteak beste. Espezie horiek gainazal abiotiko ezberdinetatik isolatuak izan direlako ebidentzia dago, eta bizigabeko gainazaletako bakterioen biziraupenari buruzko analisiak argitaratu dira (21).

Wißmann et al.-ek (2021) bakterio patogenoek zenbait gainazal bizigabetan duten biziraupen-ahalmenari buruzko artearen egoeraren laburpen bat argitaratu zuten, zeinetan agertzen den, esaterako, *Klebsiella pneumoniae*-k arropan 1h – 4 aste bizirik iraun dezakela, plastikoan 9-32 egun, zoruetan 2 aste eta altzairu herdoilgaitzean 3-6 aste (21).

1.2.1. Bakterio NDM-ekoizleen persistentzia

Azken hamarkadetan, hainbat agente antibiotikoen aurkako erresistentzia-mekanismodun *Enterobacteriaceae* bakterioen intzidentzia areagotu egin da —batez ere *Klebsiella pneumoniae* eta *Escherichia coli*— eskala globalean. *Klebsiella pneumoniae* odoleko, gernu-bideetako, beheko arnasbideetako, kirurgia osteko eta abarren infekzioak eragiten dituen patogeno ohikoenetako bat da. Azken urteetan, datuek agerian utzi dute antibiotiko klase nagusi bat edo gehiagoren aurka egiteko gaitasuna duten *K. pneumoniae* isolatuen gorakada. Horrela, erresistentzia anizkoizdun *K. pneumoniae*-k eragindako infekzioak gero eta gehiago lotzen dira morbiditate, hilkortasun eta osasun-kostu handiagoekin, batez ere tratamendu aukera desegoki eta mugatuen ondorioz. Gainera, bakterio honek ekoizten dituen erresistentziak normalean karbapenemasak dira, eta askotan NDM motako karbapenemasak (24).

Patogenoen transmisioaren prebentziorako neurri estandarrak infekzioen kontrol-neurri guztien oinarria dira. Haien garrantzia indartu egin da ikerketa interbentzional berri batekin, zeinean erresistentzia anizkoizdun bakterioen kolonizazioa eta transmisioa murrizteko zainketa intentsiboetako unitateetako (ZIU) protokoloak aztertu diren (25). Eskuen higie horetua eta zainketa-unitate osoan klorhexidina bidezko pazienteen gorputza garbitzeak erresistentzia anizkoizdun bakterioen persistentzia murriztu zuen. Hala ere, erresistentzia anizkoizdun *Enterobacteriaceae* bakterioen azpitaldea analizatzean, interbentzio bakar bat ere ez da lortu euren persistentzia eta infekzioen intzidentzia jaisten duena. Horrek iradokitzen du ez bakarrik neurri estandarrak ez direla behar den beste eraginkor, baizik eta kontaktu estuen murrizketak ere huts egin dezakeela *Enterobacteriaceae* multierresistenteen kontentzioan (24).

Erresistentzia anizkoizdun *K. pneumoniae*-ren transmisioaren arazoaren beste gako bat erreserborio isilen ezarpena da. Frantziako ZIU baten burututako ikerketa batek antzeko erreserborioak iturri zituzten agerraldi batzuez informatu zuen. *K. pneumoniae* antibiotiko-erresistentea koltxoi batean edo konketa batean, adibidez, bizirauteko gai zen, etengabeko transmisioa bultzatuz (26). Lehenago aipatu bezala, erresistentzia-mekanismoen transmisioa espeziearen beraren barruan ez ezik, beste

patogeno batzuetara ere gertatzen da. Fenomeno hau Conlan et al (2016) burututako ikerketan dokumentatu zen, zeinean erresistentzia anizkoizdun *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* eta *Citrobacter freundii* bakterioen arteko plasmidoen transferentzia horizontala aurkitu zen ospitale-ingurunean (27).

Laburbilduz, *Enterobacteriaceae* familiako bakterio batzuk, eta konkretuki *K. pneumoniae* multierresistentea, osasun-zainketekin lotutako infekzioen kausa nagusienetako bat bezala ezarri dira, infekzioa kontrolatzeko erronka handiak sortuz. Zenbait faktore garrantzitsu identifikatu dira *K. pneumoniae* multierresistentearen perpetuazioaren lagungarri bezala, eta horrek haren mundu mailako hedapen arrakastatsua ekarri du. Etorkizuneko estrategiek erresistentzia anizkoizdun *K. pneumoniae*-ren eta beste *Enterobacteriaceae* bakterioen transmisioaren alderdi zehatzetan jarri behar dute arreta neurrizko protokoloak asmatu eta plazaratzeko (24).

2. HELBURUAK

Lan honen helburu nagusia zenbait enterobakterio NDM-ekoizleren bizigabeko gainazalen gaineko biziraupen-gaitasuna aztertzea izan zen, Gurutzetako Unibertsitate Ospitaleko ZIUko gainazaletan isolaturiko bakterioak erabiliz. Bakterio horiek COVID-19 pandemia baino lehen ez ziren maiztasunez detektatzen, eta gaur egun endemiko bihurtzen ari dira. Horregatik, lanaren helburu zehatzak ondorengoak izan ziren:

- Enterobakterio NDM-ekoizleen persistentzia aztertzea gainazal bizigabeetan, porotsuak, zein ez porotsuak.
 - Bakterio-hazkuntzen kuantifikazioa, inokulatutako materialetatik zelulen berreskurapena burutu ondoren. Bakterio-hazkuntzen kuantifikazioa denbora tarte desberdinetan 4 aste igaro arte.
 - Enterobakterio erresistenteen eta sentikorren (kontrolean) persistentzia-denborak erkatzea.
 - Material porotsuen eta ez porotsuen arteko ezberdintasunak aztertzea.
- NDM genearen azterketa.
 - Enterobakterioek baldintza desiragaitzetan 4 astez biziraun ondoren NDM generaren presentziaren detekzioa.

3. MATERIAL ETA METODOAK

3.1. AZTERTUTAKO ANDUIAK

Lan honetan Gurutzetako Unibertsitate Ospitaletik 2021eko maiatzean isolaturiko bakterioak aztertu ziren. Bost lagin hauek ospitaleko ZIU eta Reanimazio zerbitzuen gainazaletatik detektatu ziren, desinfekzio prozesuen kontrola egiterakoan. Andui hauek karbapenemekiko erresistenteak ziren eta NDM-1 metalobetalaktamasa ekoizle (pazienteetatik isolatutako laginen antzera).

<i>Pantoea</i> spp.	GUOko ZIU	MBL-ekoizlea
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	GUOko ZIU	MBL-ekoizlea
<i>Citrobacter freundii</i>	GUOko Reanimazioa	MBL-ekoizlea
<i>Klebsiella oxytoca</i>	GUOko Reanimazioa	MBL-ekoizlea
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	GUOko ZIU	MBL-ekoizlea

1. Taula. Aztertutako anduiak.

3.2. ANDUI KONTROLAK

Andui kontrolak Gurutzetako Unibertsitate Ospitaleko pazienteengandik 2021ko maiatzean isolatutako 2 enterobakterio karbapenemekiko sentikor erabili ziren, *Klebsiella* espeziekoak alegia.

3.3. BAKTERIOEN BIZIRAUPENAREN AZTERKETA

Gainazal porotsu zein ez-porotsuetan bizirauteko *Pantoea* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca* eta *Enterobacter cloacae complex* enterobakterioen gaitasuna aztertu zen. Horretarako, entseguak oihala eta papera bezalako material porotsuetan eta kristala, metala eta plastikoa bezalako material ez-porotsuetan burutu ziren.

3.3.1. Inokuluen prestaketa eta materialen inokulazioa

Entseguaren aurreko egunean, enterobakterioen anduiak TSA agarrean inkubatu ziren 24 orduz 37°C-tan. Entseguaren egunean, andui bakoitzeko hiru erreplika prestatu ziren, hots, inokulazioa egun berean hirukoiztuta egin zen. Inokulua doitzeko, zelulak 3 ml gatz-soluziotan eseki ziren 0,5 McFarland esekidura prestatzeko (1×10^6 zelula/ml gutxi gorabehera). Ondoren, biosegurtasun-kanpian aipatutako materialetan 10 µl-ko inokulua material bakoitzean inokulatu zen. Kanpian materialak lagina lehortu arte utzi ziren eta ondoren labe batean utzi ziren ingurugiro tenperaturatan (25°C) entseguak iraun zuen bitartean.

3.3.2. Zelulen berreskurapena

Zelulen berreskurapena inokulazioaren egun berean hasi zen, eta lau astez luzatu. Alegia, inokuluaren berreskurapena 0., 1., 2., 5., 7., 14., 21. eta 28. egunetan egin zen. Horretarako, gatz-soluzio bolumen desberdinak gehitu ziren, materialaren arabera. Material ez porotsuen kasuan, aldez aurretik esterilizatutako % 0,89ko 30 µl gatz-soluzio gehitu ziren lagina kokatuta zegoen gunean, eta homogeneousatu ondoren, TSA agarrean saskian erein ziren. Material porotsuetan, paperaren kasuan gatz-soluzioko 100 µl gehitu ziren, eta 50 µl berreskuratu ziren agarrean ereiteko. Oihalean inokulatutako lagina berreskuratzeko, 200 µl gatz-soluzio gehitu ziren eta ereiteko 100 µl berreskuratu ziren. Plakak 24 orduz 37°C-tan inkubatu ostean UFC-en kontaketa burutu zen.

3.4. *bla*_{NDM-1} KARBAPENEMASA GENEAREN DETEKZIOA

*bla*_{NDM} genearen detekzioa PCR bidez egin zen, Poirel et al.-ek 2011n deskribatutako protokoloa jarraituz (28). DNA genomikoaren erauzketa McConkey agarrean egun batetik bestera hazitako kultiboetatik abiatuta egin zen, eta DNA erauzi zen DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen, Amerikako Estatu Batuak) kit komertziala erabiliz, fabrikatzailearen jarraibideei betez. Ondoren, PCR bidez detektatu zen *bla*_{NDM} genea, honako primer hauek erabiliz:

- NDM-F (GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC).
- NDM-R (CGGAATGGCTCATCACGATC).

30 µl-ko erreazio-bolumen bat erabili zen, barnean Biomix Red (Bioline, Erresuma Batua) 15 µl daramatzana, zeinak barne hartzen dituen dNTPak, magnesio kloruroa, erreazio-tanpoia eta Taq ADN polimerasa; eta 2 µl primer bakoitzetik (NDM-F eta NDM-R) eta 2 µl DNA laginetik gehitu ziren, ur destilatu esterilarekin bolumena osatuz.

Sekuentziaren amplifikazioa termoziklatzailean egin zen (Bio-Rad® C1000, AEB) ziklo termikoen hurrengo baldintzekin: 10 minutu 94°C-tan, 30 segundoko 36 ziklo 94°C-tan, 40 segundo 52°C-tan eta 50 segundo 72°C-tan ziklo bakoitza; eta 5 minutuko azken zikloa ere 72°C-tan. Espero zen aplikoiaren tamaina 621 bp-koa zen.

Anplifikatutako DNA zatiak % 2ko agarosa-geletan (pisua/bolumena) elektroforesi bidez banandu ziren, GelRed (Biotium, AEB) 0,03 µL/ml barne hartzen zuena, produktu amplifikatuaren 5ml-ko bolumenarekin, protokolo estandarrari jarraituz. Pisu molekularreko markatzaile gisa HyperLader IV (Bioline, Erresuma Batua) markatzaile komertziala erabili zen, zeinaren bandek 100 bp eta 1000 bp arteko pisua adierazten duten, 100 bp-ko tartearekin.

Elektroforesia 90 V-ko korrante jarraitu batekin egin zen 70 minutuz, eta gela Chemidoc-ean (Bio-rad, AEB) bistaratu ondoren, zatiaren tamaina zehaztu zen, pisu molekularreko markatzailearekin konparatuz.

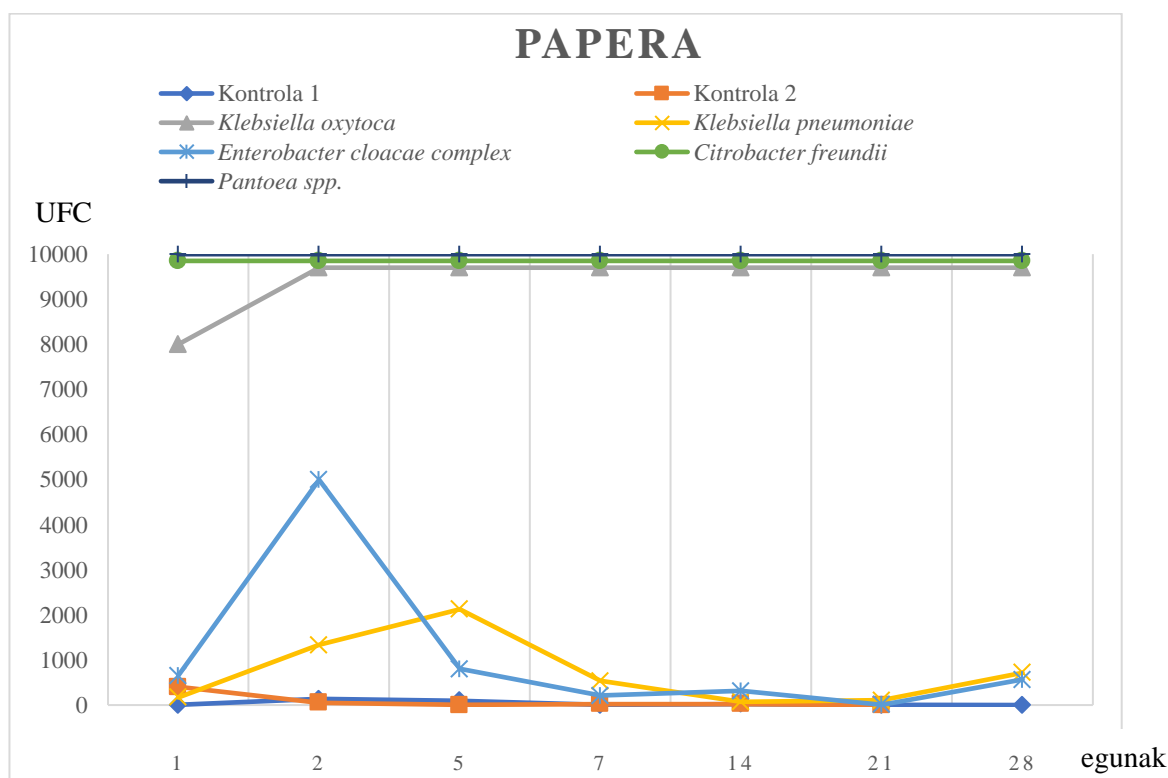
4. EMAITZAK

4.1. BAKTERIOEN BIZIRAUPENAREN AZTERKETA

Bakterioen biziraupen-denborari dagokionez, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea* spp. izan ziren biziraupen-tasa altuagoak erakutsi zituztenak. *Klebsiella pneumoniae* eta *Enterobacter cloacae* complex bakterioek, aldiz, ez zituzten persistenzia denbora luzeak azaldu, erabilitako andui kontrol sentikorren antza izanik.

Biziraupen-denborak materialen arabera sailkatuz gero, argi dago plastikoan, paperan eta oihalean biziraupen-tasak askoz altuagoak izan zirela kristalean eta metalean baino, batez ere arreta *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea* spp. anduietan jarritz gero. Izan ere, hiru bakterio horiek 28. egunera arte UFC bideragarriak azaldu zituzten.

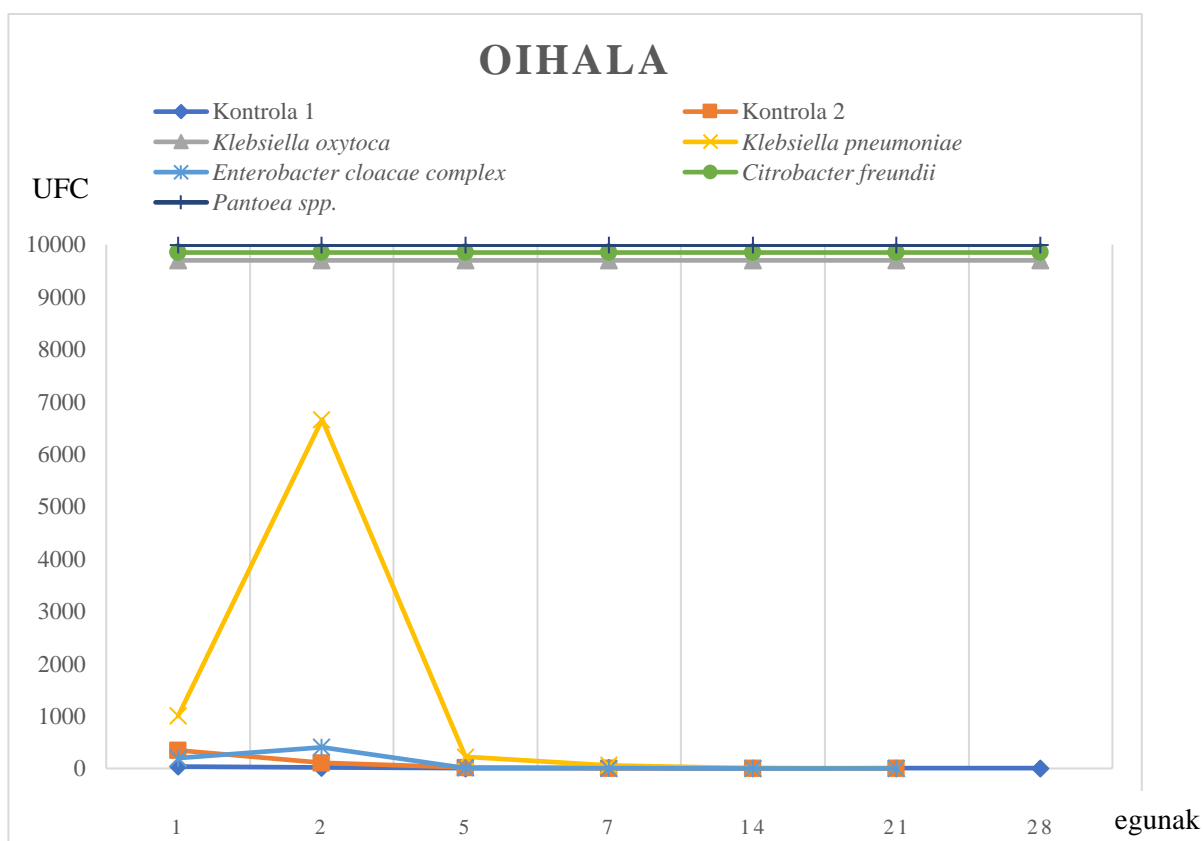
5. Irudian ikusten den moduan, paperan persistentzia-denbora luzeenak *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea* spp. bakterioek erakutsi zituzten, 28. egunean oraindik 10000 UFC/ml baino gehiago hazten ziren-eta (kopuru estimatua, kontaezina izateagatik). *Enterobacter cloacae* complex-en UFC/ml kopuru altuenak 2. egunerako % 84 murriztuz. Egun horren ondoren, biziraupen-tasak jaitsi egin ziren oro har, eta 7. egunetik aurrera, UFCren zenbaketa txikia bazen ere, 28. egunera arte unitate bideragarriak detektatu ahal izan ziren. *Klebsiella pneumoniae*-k 5. egunean erakutsi zituen UFC/ml kopuru altuenak, eta handik aurrera jaitsi egin zen, nahiz eta 28. egunera arte kolonia bideragarri gutxi batzuk lortu. Andui kontrolek, berriz, biziraupen-tasa oso baxuak azaldu zituzten hasieratik eta 21. egunetik aurrera 0 UFC/ml detektatu ziren.



5. Irudia. Papereko isolamendu bakoitzeko unitate kolonia-eratzaille (UFC) kopurua.

6. Irudian ikus daitekeen bezala, oihalean persistentzia-denbora luzeenak berriro ere *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea* spp. bakterioek erakutsi zituzten,

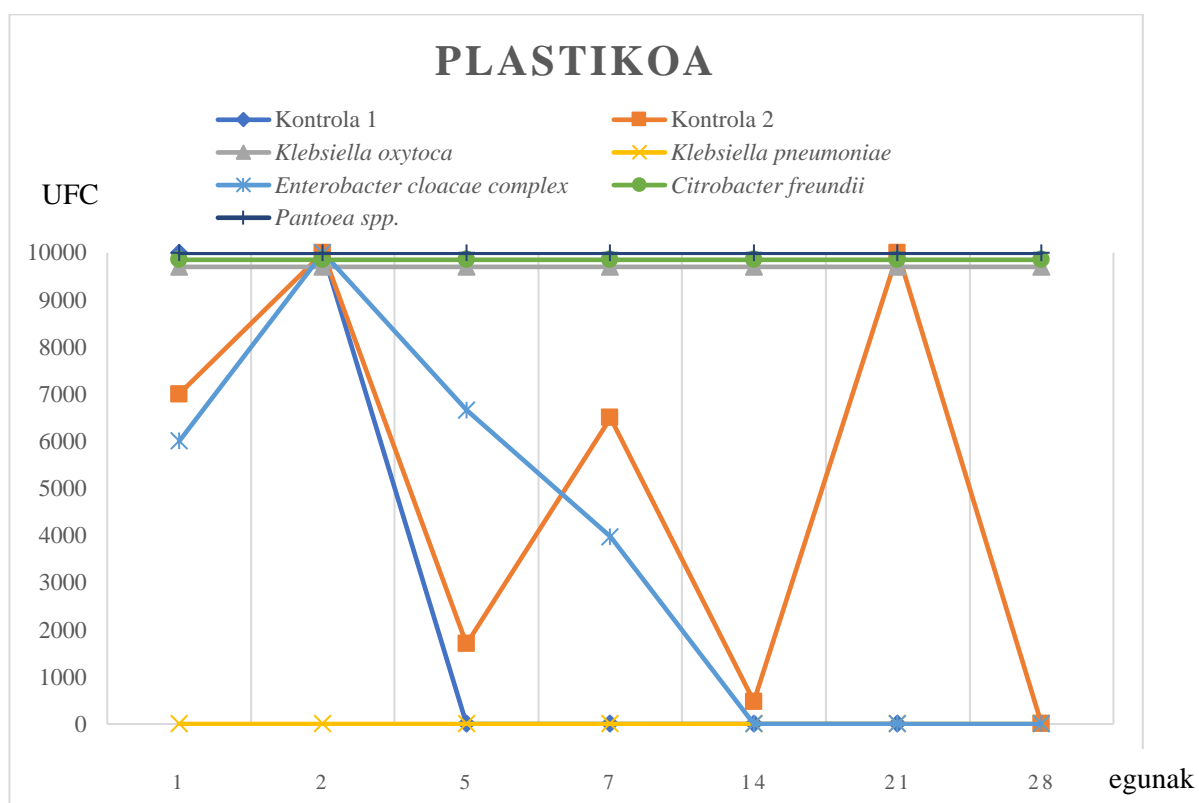
egunero eta 28. egunera arte 10000 UFC/ml baino gehiago hazi baitziren. *Enterobacter cloacae complex*-en UFC/ml kopuru baxuak erakutsi zituen berreskurapen guztietan, altuenak 2. egunean erregistratu zirelarik, 404 UFC/ml-rekin, 5. egunerako % 97,3 murriztuz. Handik aurrera, kopuru oso txikiak erakutsi zituen, 14. egunetik aurrera jada 0 UFC detektatu zirelarik. *Klebsiella pneumoniae*-k 2. egunean erakutsi zituen UFC/ml kopuru altuenak, 6660 UFC/ml-rekin, eta handik aurrera jaitsi egin zen, 21. egunetik aurrera 0 UFC haziz. Andui kontrolek oihalean ere biziraupen-tasa oso baxuak azaldu zituzten hasieratik eta 14. egunetik aurrera 0 UFC detektatu ziren.



6. Irudia. Oihaleko isolamendu bakoitzeko unitate kolonia-eratzaille (UFC) kopurua.

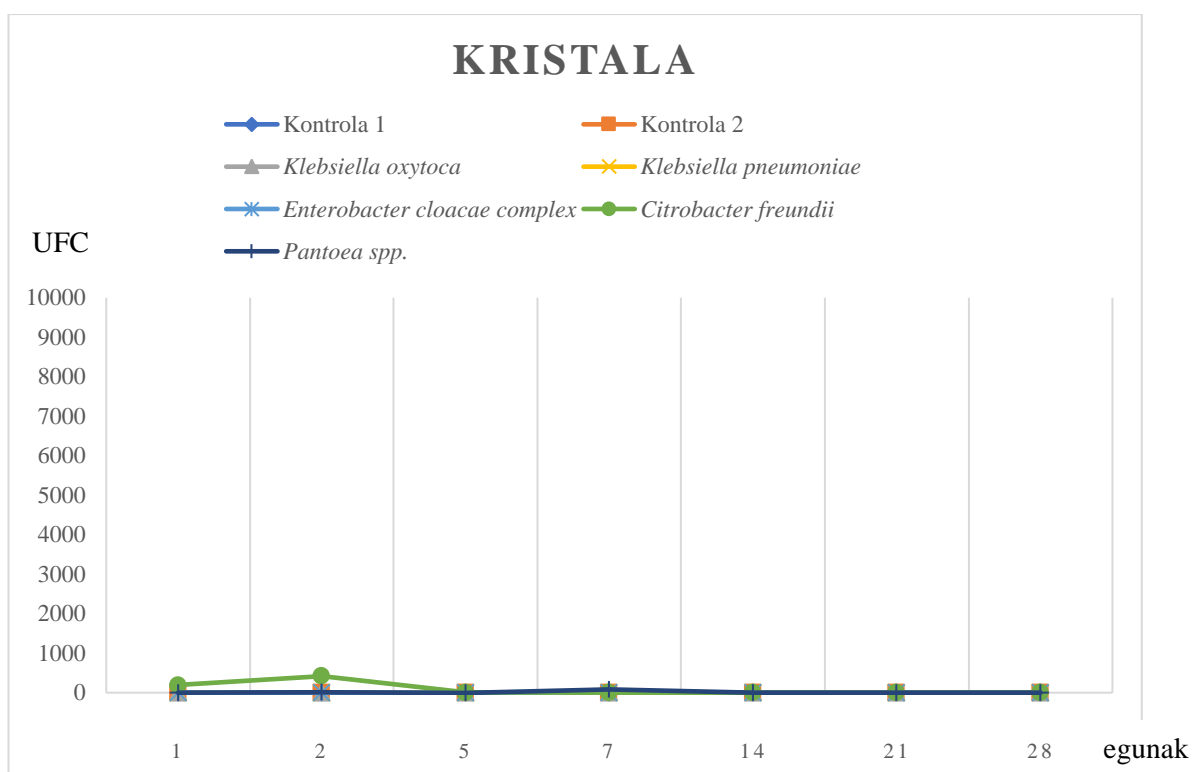
7. Irudiak plastikoko berreskurapenen datuak erakusten ditu. Persistentzia-denbora luzeenak *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea spp.* bakterioek erakutsi zituzten, egunero eta 28. egunera arte 10000 UFC/ml baino gehiagoko datuak emanez. *Enterobacter cloacae complex*-ek 10000 UFC/ml baino gehiago eman zituen 2. egunean, 5. egunerako % 33 murriztu zen, 7. egunean beste % 40,3 jaitsi, eta 14.

egunetik aurrera 0 UFC berreskuratu ziren. *Klebsiella pneumoniae*-k egun guztietan eman zituen 0 UFC. 1. andui kontrolak 1. eta 2. egunetan 10000 UFC/ml baino gehiago eman zituen eta handik aurrera kopuru oso txikiak, 14. egunean jada 0 UFC kontatu zirelarik. 2. andui kontrolak, ostera, emaitza aldakorrek eskaini zituen, kasu batzuetan kantitate handiagoak eta beste batzuetan kopuru txikiagoak detektatu zirelarik, grafikoan ikusten den bezala.



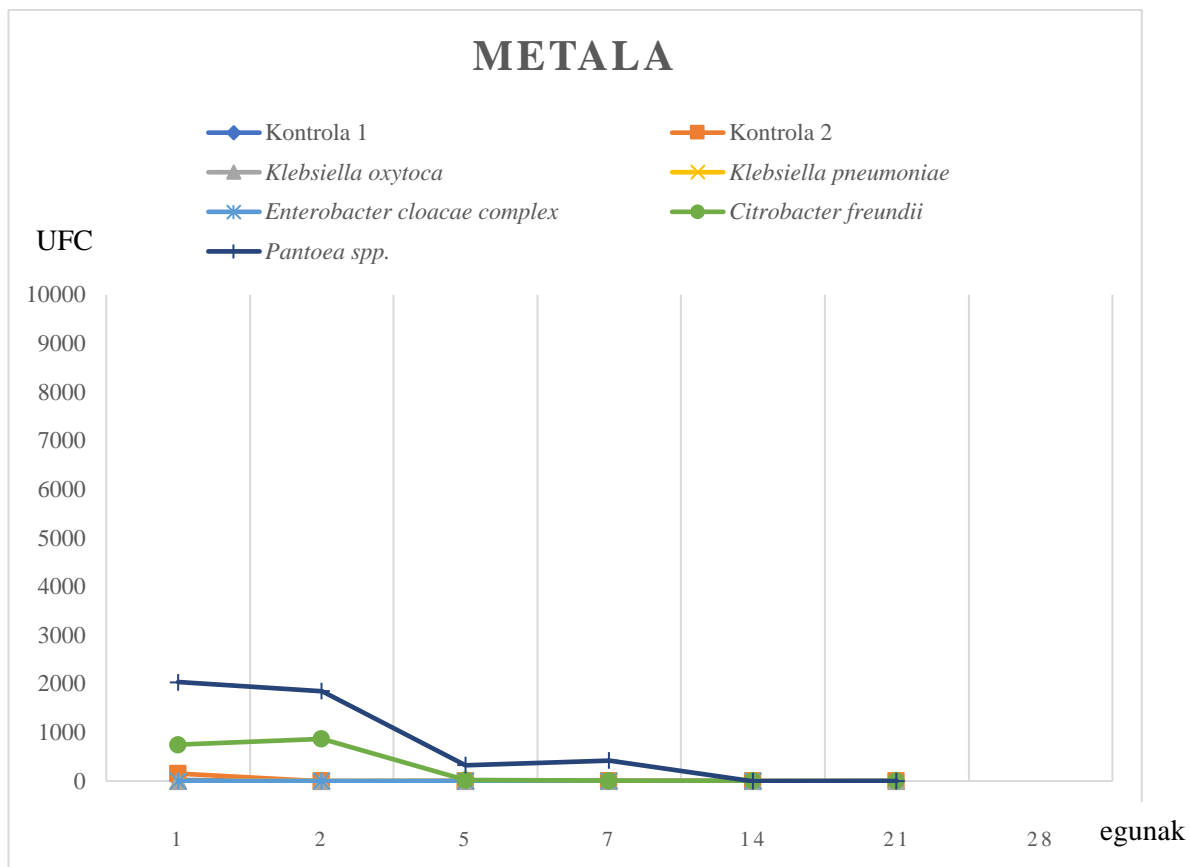
7. Irudia. Plastikoko isolamendu bakoitzeko unitate kolonia-eraztaile (UFC) kopurua.

8. Irudiko datuek erakusten duten moduan, kristalean espezie gehienek kasuan ez ziren andui bideragarririk detektatu hasieratik, bi kasutan izan ezik. *Citrobacter freundii*-k 2. egunetan erakutsi zituen datu altuenak, 417,7 UFC/ml-rekin, 7. egunetik aurrera 0 UFC azalduz. *Pantoea* spp.-k, aldiz, 1. egunetan 0 UFC eman zituen, pixkanaka igo zen 7. egunetan 82,3 UFC/ml erakutsi arte, eta 14. egunetik aurrera 0 UFC detektatu ziren.



8. Irudia. Kristaleko isolamendu bakoitzeko unitate kolonia-eratzaille (UFC) kopurua.

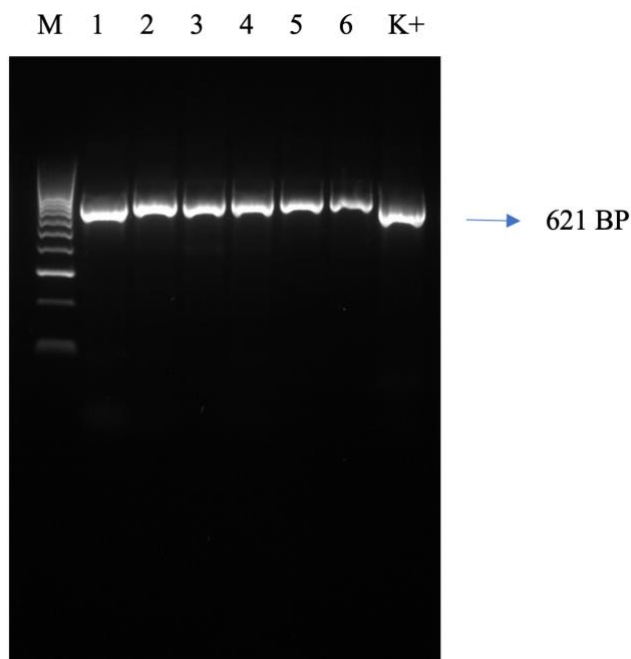
9. Irudian ikus daiteke *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* eta *Enterobacter cloacae complex*-ek egunero 0 UFC azaldu zituztela. *Citrobacter freundii*-k 2. egunean erakutsi zituen datu altuenak, 866,7 UFC/ml-rekin, handik aurreraka gutxinaka jaitsiz eta 14. egunetik aurrera 0 UFC azalduz. *Pantoea spp.*-k, berriz, 1. egunean 2036,7 UFC/ml erakutsi zituen eta handik aurrera jaitsiz joan zen, 21. egunean 0 UFC erakutsi arte. Andui kontrolek lehenengo 2 egunetan UFC/ml kopuru baxuak azaldu zituzten, eta 5. egunetik aurrera ez zen UFC-rik detektatu.



9. Irudia. Metaleko isolamendu bakoitzeko unitate kolonia-eratzaila (UFC) kopurua.

4.2. *bla*_{NDM-1} KARBAPENEMASA GENEAREN DETEKZIOA

NDM-1 karbapenemasaren detekzioa 28. egunean material batzuetan hazi ziren anduien laginetatik abiatuta egin zen, hots, 5 andui MBL-ekoizleak hartu ziren, denek eman baitzituzten 28. egunean unitate bideragarriak materialen baten. Kasu guztietan lortu zen *bla*_{NDM-1} geneari zegokion 621 bp-ko aplikoi baten presentzia, 10. Irudian ikus daitekeen legez.



10. Irudia. NDM-1 karbapenemasaren detekzioa, 28. egunean material batzuetan hazi ziren anduietan.

5. EZTABAIDA

Egun eskuragarri daukagun informazioa eskasa den arren, COVID-19 pandemiak antimikrobialrekiko erresistentzietan izan duen benetako eragina ebaluatzea zailduz, arrazoizkoa da sinestea pandemiak eragindako osasun-zerbitzuen disrupzio globalak antimikrobialrekiko erresistentzien patroien aldaketa nabari batera eraman gaituela. Zehazki, baliteke pazienteen antimikrobialrekiko esposizio luzatuak eta errutinazko infekzioen kontrolerako protokoloen betetze eskasak patogeno erresistenteen hedapena ekarri izana (29). Gainera, ospitalean ingresatzeak handitu egiten du horrelako patogeno batengatiko infekzioa hartzeko probabilitatea, eta horrek, aldi berean, antibiotikoen erabilpena ere handitzen du (30).

Halaber, Getahun H et al.-ek 88 herrialdeetako hainbat ZIUtako burututako entsegu batek agerian utzi zuen nahiz eta pazienteen % 54ak izan koinfekzio bakteriar bat, edo horren susmoa, % 70ak jaso izan zuela gutxienez antibiotiko bat, tratamendu zein profilaxi modura (31).

Horrela, hainbat ikerketek deskribatu dute mikroorganismo multierresistenteen gorakada COVID-19 pandemiarekin batera (32, 33). Tiri B et al.-en ikerketa erretrospektibo batek erakutsi zuen *Enterobacteriaceae* karbapenem-erresistenteen intzidentziak nabarmen egin zuela gora, 2019an %6,7koa izatetik, 2020ko martxo-apirilean %50 izatera igaroz (34), bakterio hauek eragiten dituzten infekzioen tratamendua asko zailduz. Lan honetan ere, gure inguruan antzeko egoera bizi dugula ikusten da, Gurutzetako Unibertsitate Ospitalean mota hauetako bakterioak COVID-19 pandemia baino lehen ez ziren maiztasunez detektatzen, eta gaur egun endemiko bihurtzen ari dira.

Mikroorganismo hauek transmititzeko orduan, ospitaleetako fomite eta gainazalek duten garrantzia ezin da alde batera utzi. Horrela, gaixotasun nosokomialak prebenitzeko orduan bizigabeko gainazalen desinfekzioak paper garrantzitsu bat jokutzen du. Desinfekzio hori burutzeko, osasungintza-zerbitzuetan protokolo zehatzak ezartzen dira. Lan honetan, argi geratzen da protokoloen jarraipen zehatza egin behar dela gainazalako mikroorganismoak lehenbailehen detektatzeko, eta protokoloen berrikuspena, egokitzapena edo eguneraketa egitea ezinbestekoa dela, bizigabeko gainazalak tratatzeko hain zailak diren infekzio horien transmisio-foku etengabea izan daitezkeelako.

Lan honetan, Gurutzetako Unibertsitate Ospitaleko ZIUko gainazalen desinfekzio-kontroletan isolatutako bakterioak aztertu ziren. Bakterio horiek karbapenemekiko erresistenteak ziren eta, konkretuki, NDM-1 karbapenemasaren ekoizleak. Andui horien ondorengo biziraupen-azterketek *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea* spp.-ren paperaren, oihalaren eta plastikoaren gaineko persistentzia-gaitasun handia erakutsi zuten.

Datu hauek bat datoz Europako 13 ZIUtan egindako ikerketa batekin, non ZIUko enterobakterioen birizaupena eta transmisioa aztertzean *Enterobacteriaceae* antibiotiko-erresistenteen transmisioa ia 4 aldiz altuagoa zen *E. coli* ez ziren enterobakterioetan *E. coli*-an baino (35).

Antzeko emaitzak lortu ziren pediatriako populazio batean egindako ikerketa batean, non 470 ingurumeneko lagin hartu ziren. Horien artean, 19 bakterio espektro zabaleko β -laktamasen (ESBL) ekoizleak izan ziren. *Klebsiella pneumoniae* espezierik

isolatuena izan zen (36). Aurkikuntza hauek, gainera, Frantzian eginiko beste ikerketa batek ere konfirmatzen ditu, non ingurumenaren kutsadura altuagoa izan zen ESBL-*Klebsiella pneumoniae*-rekin kolonizatutako edo kutsatutako gaixoetan, beste ESBL-*Enterobacteriaceae* batzuekin kutsatutako gaixoetan baino (37). Nahiz eta lan honetan ez zen izan *Klebsiella pneumoniae* persistentzia-gaitasun handiena erakutsi zuen anduia, datu horiek iradokitzen dute patogeno multierresistenteen kutsadura kontrolatzeko neurri zehatzak garatu behar direla *Enterobacteriaceae* familiako kide ezberdin bakoitzarentzat, haien artean ezberdintasun garrantzitsuak aurkezten dituzte-eta (24).

Lan honetan, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea* spp. bakterioek hilabete baino gehiago biziraun zuten paperan, oihalean eta plastikoan. Alemaniako unibertsitate baten burututako errebisio sistematiko baten arabera, *Enterobacter* spp. eta *Klebsiella* spp. bezalako bakterio Gram-negatibo gehienek hainbat hilabetez iraun dezakete bizirik gainazal inanimatuetan, eta, orokorrean, Gram-positiboek baino persistentzia handiagoa izaten dute (22).

Badakigu bakterioek gainazaletan eta fomiteetan atxikitze duen gaitasunak zerikusia duela adhesio-molekulekin, ingurune baldintza fisiko-kimikoekin eta biofilmen eraketarekin (38). Kasu honetan, persistentzia-tasa altuenak azaldu dituzten *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea* spp. bakterioek biofilmak eratzeko gaitasuna azaldu dute tresneria eta gainazaletan (39, 40). Beraz, lan honetatik atera dezakegun ondorio bat da desinfekziorako erabiltzen diren produktuen berrikuspen bat egitea beharrezkoa dela. Honen harira, interesgarria izango litzateke mikroorganismo horien biofilmak inhibitze produktuen ikerkuntza egitea; alegia, desinfekzioan, biozidaz gain, biofilmak inhibitze produktuak gehitzea ere komenigarria izango litzateke iraute-tasa altuagoak eskaintzen dituzten biogeruza horien sorrera ekiditeko asmoz.

Biofilmak mikroorganismo-espezie desberdinak biltzeko gai diren egiturak dira, eta, beraz, haien arteko erresistentzia-geneen transmisioa errazten da, hainbat egituratan garraiatuak izan daitezkeenak, hala nola plasmidoetan. Lan honetan aztertu diren gainazaletako espezie berberak isolamendu klinikoetan, kolonizazioetan eta ingurumen-laginetan isolatzeak, eta kasu guztietan NDM-1 karbapenemasa

detektatzeak, erakusten du ospitale-mailan hedapen handia gertatu dela. Hilabetez irauteko gai diren laginetan NDM-1 karbapenemasa detektatzeak erakusten digu ingurumen-lagin horiek pazienteentzat dakarten mehatxu handia, osasun-langileen eskuen bidez transmititzeko eta tratatzeko oso zailak diren infekzioak eragiteko, isolamendu erresistenteak direlako, baita karbapenemen aurkakoak ere, azken aukera terapeutikoa infekzio larrien kasuan (41).

Beraz, argi dago antibiotikoekiko erresistentzien gorakadak suposatzen duen arazoa ez dela deuseztatzeko moduko mehatxua. Gainera, antibiotikoak erabiltzen jarraitzeko presioak bermatzen du bakterio erresistente horien prebalentzia zein hedapena eta etorkizunean agertuko diren patogeno erresistente berriak fenomeno iraunkorra izango direla (5). Hortaz, premiazkoa da mikroorganismo erresistenteen biziraupenari buruz ikertzen jarraitzea eta horiei aurre egiteko metodo berriak garatzea.

6. ONDORIOAK

- ZIUko gainazaletatik isolatutako *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* eta *Pantoea* spp. espezieek luzaro irauten dute ingurumenean infekzio-foku konstante bat izanik, 28 egun baino gehiago biziraun baitzuten paperan, oihalean eta plastikoan, eta 5-7 egun kristalean eta metalean.
- Gainazaletan 28 egun igaro ondoren bizirauten zuten espezieek NDM-1 karbapenamasa genea mantentzen zuten, pazienteentzako mehatxu bat izanik. Izan ere, infekzio-foku horietatik pazienteak kutsatzen badira, sortutako infekzioak karbapenemekiko erresistenteak izango dira, infekzioen tratamendua konprometituz.
- ZIUetako gainazaletatik mikroorganismo hauek isolatu izanak desinfekzio-protokoloak berrikusteko beharra adierazten du, mikroorganismo horien atxikipena eta iraunkortasuna inhibitzeko ahalmena duten substantziak bilatzeko azterlanak egiteko beharra adieraziz, gainazaletan infekzio-fokurik ezar ez dadin.

7. BIBLIOGRAFIA

1. van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Virulence*. 2017 May 19;8(4):460-469. doi: 10.1080/21505594.2016.1222343.
2. Nieuwlaat R, Mbuagbaw L, Mertz D, Burrows LL, Bowdish DME, Moja L, Wright GD, Schünemann HJ. Coronavirus Disease 2019 and Antimicrobial Resistance: Parallel and Interacting Health Emergencies. *Clin Infect Dis*. 2021 May 4;72(9):1657-1659. doi: 10.1093/cid/ciaa773.
3. O'Neill. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. The Review on Antimicrobial Resistance chaired by Jim O'Neill. 2014 Dec. Available at: <https://wellcomecollection.org/works/rdpck35v>
4. Mahoney AR, Safae MM, Wuest WM, Furst AL. The silent pandemic: Emergent antibiotic resistances following the global response to SARS-CoV-2. *iScience*. 2021 Apr 23;24(4):102304. doi: 10.1016/j.isci.2021.102304.
5. Medina E, Pieper DH. Tackling Threats and Future Problems of Multidrug-Resistant Bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2016;398:3-33. doi: 10.1007/82_2016_492.
6. Monté L, Martínez R. Microorganismos aislados en pacientes ingresados. Hospital "Salvador Allende", La Habana. Febrero a junio de 2015. *Rev haban cienc méd [Internet]*. 2017 Ago [citado 2021 Dic 21];16(4):552-563. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729519X201700040007&lng=es.
7. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr*. 2016 Apr;4(2). doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
8. Egorov AM, Ulyashova MM, Rubtsova MY. Bacterial Enzymes and Antibiotic Resistance. *Acta Naturae*. 2018 Oct-Dec;10(4):33-48. doi: 10.32607/20758251-2018-10-4-33-48.

9. Ruiz-Garbajosa P, Cantón R. COVID-19: Impact on prescribing and antimicrobial resistance. *Rev Esp Quimioter*. 2021 Sep;34 Suppl 1:63-68. doi: 10.37201/req/s01.19.2021.
10. World Health Organization. COVID-19 Weekly Epidemiological Update [Internet]. Ginebra: OMS; 2021 Dec 14 [cited 2021 Dec 16]. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>
11. Ukuhor HO. The interrelationships between antimicrobial resistance, COVID-19, past, and future pandemics. *J Infect Public Health*. 2021 Jan;14(1):53-60. doi: 10.1016/j.jiph.2020.10.018.
12. Gomez-Simmonds A, Annavaiah MK, McConville TH, Dietz DE, Shoucri SM, Laracy JC, et al. Carbapenemase-producing *Enterobacterales* causing secondary infections during the COVID-19 crisis at a New York City hospital. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76:380- 384. doi: 10.1093/jac/dkaa466.
13. Pintado V, Ruiz-Garbajosa P, Escudero-Sanchez R, Gioia F, Herrera S, Vizcarra P, et al. Carbapenemase-producing *Enterobacterales* infections in COVID-19 patients. *Infect Dis (Lond)*. 2022 Jan;54(1):36-45. doi: 10.1080/23744235.2021.1963471.
14. Aguilera Y, Díaz Y, Ortiz L, Gonzalez O, Lovelle O, Sánchez M. Infecciones Bacterianas Asociadas a La COVID-19 En Pacientes de Una Unidad de Cuidados Intensivos. *Revista cubana de Medicina Militar*. 2020 Ago;49(3):14. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-65572020000300003&script=sci_arttext&tlng=pt
15. Peleg AY, Hooper DC. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. *N Engl J Med*. 2010 May 13;362(19):1804-13. doi: 10.1056/NEJMra0904124.
16. Basu S. Variants of the New Delhi metallo- β -lactamase: new kids on the block. *Future Microbiol*. 2020 May;15:465-467. doi: 10.2217/fmb-2020-0035.

17. Wu W, Feng Y, Tang G, Qiao F, McNally A, Zong Z. NDM Metallo- β -Lactamases and Their Bacterial Producers in Health Care Settings. *Clin Microbiol Rev.* 2019 Jan 30;32(2):e00115-18. doi: 10.1128/CMR.00115-18.
18. Khan AU, Maryam L, Zarrilli R. Structure, Genetics and Worldwide Spread of New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. *BMC Microbiol.* 2017 Apr 27;17(1):101. doi: 10.1186/s12866-017-1012-8.
19. Xiang T, Chen C, Wen J, Liu Y, Zhang Q, Cheng N, Wu X, Zhang W. Resistance of *Klebsiella pneumoniae* Strains Carrying *bla*_{NDM-1} Gene and the Genetic Environment of *bla*_{NDM-1}. *Front Microbiol.* 2020 Apr 30;11:700. doi: 10.3389/fmicb.2020.00700.
20. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis.* 2019 Nov 13;69(Suppl 7):S521-S528. doi: 10.1093/cid/ciz824.
21. Wißmann JE, Kirchhoff L, Brüggemann Y, Todt D, Steinmann J, Steinmann E. Persistence of Pathogens on Inanimate Surfaces: A Narrative Review. *Microorganisms.* 2021 Feb 9;9(2):343. doi: 10.3390/microorganisms9020343.
22. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis.* 2006 Aug 16;6:130. doi: 10.1186/1471-2334-6-130.
23. Costa DM, Johani K, Melo DS, Lopes LKO, Lopes Lima LKO, Tipple AFV, Hu H, Vickery K. Biofilm contamination of high-touched surfaces in intensive care units: epidemiology and potential impacts. *Lett Appl Microbiol.* 2019 Apr;68(4):269-276. doi: 10.1111/lam.13127.
24. Vock I, Tschudin-Sutter S. Persisting intrahospital transmission of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* and challenges for infection control. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2019 Aug;40(8):904-909. doi: 10.1017/ice.2019.153.

25. Derde LPG, Cooper BS, Goossens H, Malhotra-Kumar S, Willems RJL, Gniadkowski M et al. Interventions to reduce colonisation and transmission of antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: an interrupted time series study and cluster randomised trial. *Lancet Infect Dis*. 2014 Jan;14(1):31-39. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70295-0.
26. Pantel A, Richaud-Morel B, Cazaban M, Bouziges N, Sotto A, Lavigne JP. Environmental persistence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in a French intensive care unit. *Am J Infect Control* 2016;44(3):366-8. doi: 10.1016/j.ajic.2015.09.021.
27. Conlan S, Thomas PJ, Deming C, et al. Single-molecule sequencing to track plasmid diversity of hospital-associated carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Sci Transl Med* 2014 Sep 17;6(254):254ra126. doi: 10.1126/scitranslmed.3009845.
28. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011 May;70(1):119-23. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002.
29. Mędrzycka-Dąbrowska W, Lange S, Zorena K, Dąbrowski S, Ozga D, Tomaszek L. Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infections in ICU COVID-19 Patients-A Scoping Review. *J Clin Med*. 2021 May 12;10(10):2067. doi: 10.3390/jcm10102067.
30. Mahmoudi H. Bacterial co-infections and antibiotic resistance in patients with COVID-19. *GMS Hyg Infect Control*. 2020 Dec 17;15:Doc35. doi: 10.3205/dgkh000370.
31. Getahun H, Smith I, Trivedi K, Paulin S, Balkhy HH. Tackling antimicrobial resistance in the COVID-19 pandemic. *Bull World Health Organ*. 2020 07;98(7):442-442A. doi: 10.2471/BLT.20.268573
32. Lai CC, Chen SY, Ko WC, Hsueh PR. Increased antimicrobial resistance during the COVID-19 pandemic. *Int J Antimicrob Agents*. 2021 Apr;57(4):106324. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106324.

33. O'Toole RF. The interface between COVID-19 and bacterial healthcare-associated infections. *Clin Microbiol Infect.* 2021 Dec;27(12):1772-1776. doi: 10.1016/j.cmi.2021.06.001.
34. Tiri B, Sensi E, Marsiliani V, Cantarini M, Priante G, Vernelli C, et al. Antimicrobial Stewardship Program, COVID-19, and Infection Control: Spread of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Colonization in ICU COVID-19 Patients. What Did Not Work? *J Clin Med.* 2020 Aug 25;9(9):2744. doi: 10.3390/jcm9092744.
35. Gurieva T, Dautzenberg MJD, Gniadkowski M, Derde LPG, Bonten MJM, Bootsma MCJ. The Transmissibility of Antibiotic-Resistant *Enterobacteriaceae* in Intensive Care Units. *Clin Infect Dis.* 2018;66(4):489-493. doi:10.1093/cid/cix825.
36. Guet-Revillet H, Le Monnier A, Breton N, et al. Environmental contamination with extended-spectrum beta-lactamases: is there any difference between *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp? *Am J Infect Control* 2012;40:845–848. doi: 10.1016/j.ajic.2011.10.007.
37. Gbaguidi-Haore H, Talon D, Hocquet D, Bertrand X. Hospital environmental contamination with *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamase. *Am J Infect Control* 2013;41:664–665. doi: 10.1016/j.ajic.2012.07.021.
38. Esteves DC, Pereira VC, Souza JM, Keller R, Simões RD, Winkelstroter Eller LK, Rodrigues MV. Influence of biological fluids in bacterial viability on different hospital surfaces and fomites. *Am J Infect Control.* 2016 Mar 1;44(3):311-4. doi: 10.1016/j.ajic.2015.09.033.
39. Cai L, Wang H, Liang L, Wang G, Xu X, Wang H. Response of Formed-Biofilm of *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, and *Citrobacter freundii* to Chlorite-Based Disinfectants. *J Food Sci.* 2018 May;83(5):1326-1332. doi: 10.1111/1750-3841.14149.

40. Yannarell SM, Grandchamp GM, Chen SY, Daniels KE, Shank EA. A Dual-Species Biofilm with Emergent Mechanical and Protective Properties. *J Bacteriol.* 2019 Aug 22;201(18):e00670-18. doi: 10.1128/JB.00670-18.
41. Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng C, Du Y, Bonsu E, Sintim HO. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Med Chem.* 2015;7(4):493-512. doi: 10.4155/fmc.15.6.