



Imagenología de las infecciones por *Enterobacterales* a través del estudio por Tomografía por Emisión de Positrones con ^{18}F -Fluorodeoxisorbitol

Luz Maira Wintaco Martínez

Documento de tesis presentado como requisito para optar al título de
Doctor en Ciencias Biomédicas y Biológicas

**ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS Y BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO
BOGOTÁ, D.C.
2022**



Imagenología de las infecciones por *Enterobacteriales* a través del estudio de Tomografía por Emisión de Positrones con ^{18}F -Fluorodeoxisorbitol

Estudiante:

Luz Maira Wintaco Martínez

Bacterióloga, M.Sc. en Ciencias Básicas Biomédicas
Candidata Doctoral en Ciencias Biomédicas y Biológicas

Director:

Ulises Granados Oliveros

M.D., Ph. D en Medicina Investigación Traslacional - Universidad de Barcelona
Jefe Unidad de Medicina Nuclear - Hospital Internacional de Colombia
Fundación Cardiovascular de Colombia

**ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS Y BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO
BOGOTÁ, D.C.
2022**

AGRADECIMIENTOS

- Agradezco inmensamente a Dios por darme la fuerza interior y sabiduría para culminar mis estudios.
- A mis padres y hermanos por su apoyo incondicional.
- A mi Esposo por ser el mejor compañero de vida.
- A todos los pacientes que aceptaron participar en el proyecto de investigación con la esperanza de contribuir en su valoración médica y aportar al desarrollo de una nueva herramienta de diagnóstico.
- Al Dr. Ulises Granados Oliveros, mi director de tesis por confiar en mis capacidades y permitirme ser parte de este proyecto de investigación.
- A la Universidad Johns Hopkins. Centro de Investigaciones en Infección e Inflamación de la Escuela de Medicina, especialmente al Dr. Álvaro Ordoñez por permitirme ser parte de esta investigación y compartir su conocimiento.
- A mis compañeros de trabajo, que han sido parte fundamental para la realización de este proyecto, principalmente a Digson, José, Alejandro⁺⁺, Maira, Nathalia, Juanito, Julio y Jorge, cada uno dio lo mejor desde su experiencia profesional para la realización de los estudios PET/TC.
- A la Universidad Nuestra Señora del Rosario, Dirección Académica por los apoyos económicos recibidos durante mi formación como estudiante doctoral, los cuales me permitieron viajar fuera del país para la presentación en un evento científico.
- Al Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación, por financiar el proyecto de investigación, código de registro 656677758411, dentro de la convocatoria para proyectos de Ciencias, Tecnología e Innovación en Salud 777-2017.

TABLA DE CONTENIDO

1.	LISTA DE TABLAS	6
2.	LISTA DE FIGURAS.....	7
3.	LISTA DE ABREVIATURAS	8
4.	RESUMEN	9
5.	ESTADO DEL CONOCIMIENTO	12
5.1	<i>Enterobacteriales</i>	12
5.2	Manifestaciones clínicas	14
5.2.1	Infecciones gastrointestinales	16
5.2.2	Infecciones de tracto respiratorio.....	17
5.2.3	Infecciones de tracto urinario.....	17
5.2.4	Infecciones de torrente sanguíneo.....	17
5.3	Epidemiología.....	19
5.4	Diagnóstico	23
5.5	Tratamiento	24
5.6	Medicina nuclear y la Tomografía por Emisión de Positrones (PET)	26
6.	HIPÓTESIS DEL TRABAJO.....	32
7.	OBJETIVOS	32
7.1	Objetivo principal	32
7.2	Objetivos específicos	32
8.	CAPÍTULO I.	33
	Estandarización del radiotrazador ^{18}F -Fluorodexosisorbitol.	33
8.1	Introducción	34
8.1.1	Radiotrazadores.....	34
8.1.2	Galio 67.....	35
8.1.3	Leucocitos radiomarcados	36
8.1.4	Antibióticos radiomarcados	39
8.1.5	Péptidos antimicrobianos	40
8.1.6	^{18}F -Fluorodexosiglucosa.....	40
8.2	Objetivo.....	43
8.3	Materiales y Métodos.....	43

8.3.1 Estandarizar la síntesis del radiotrazador ^{18}F -FDS	43
8.3.2 Control de calidad radioquímica:	44
8.4 Resultados	45
8.5 Conclusiones	49
8.6 Productos del capítulo I	50
9. CAPÍTULO II.	51
Evaluar la utilidad del estudio por tomografía por emisión de positrones con ^{18}F -FDS en el diagnóstico y seguimiento de infecciones originadas por <i>Enterobacterales</i>	51
9.1 Conclusiones	61
9.2 Productos del capítulo II	62
11. Capítulo III.	63
Epidemiología y susceptibilidad antimicrobiana de las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud.	63
10.1 Conclusiones	95
10.2 Productos del capítulo III	96
12. REFERENCIAS	97

1. LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Factores de riesgo para colonización o infección por *Enterobacterales*.

Tabla 2. *Enterobacterales* de importancia clínica.

Tabla 3. Características de un radiotrazador para infecciones bacterianas

Tabla 4. Resultado por cromatografía de capa fina de la síntesis de ^{18}F -FDS.

Tabla 5. Protocolo para realizar la síntesis radioquímica de ^{18}F -FDS a partir de ^{18}F -FDG

2. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Pared celular bacteriana Gram negativa.

Figura 2. Distribución global de *Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenemasas.

Figure 3. Principio de la Tomografía por Emisión de Positrones.

Figure 4. Esquema sobre la adquisición de imágenes PET.

Figure 5. Absorción del ^{18}F -FDS por *Enterobacterales*.

Figure 6. Imágenes PET/TC ^{18}F -FDS en murinos inmunocompetentes con miositis por *Escherichia coli*.

Figure 7. Distribución fisiológica ^{18}F -FDS.

Figure 9. Resultados por cromatografía de capa fina para ^{18}F -FDS.

Figura 10. Esquema para la síntesis de ^{18}F -FDS a partir de ^{18}F -FDG

3. LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
TC	Tomografía Computarizada
SPECT	Tomografía Computarizada por Emisión de Fotón Único
^{18}F -FDG	2- [^{18}F] fluoro-2-desoxi-D-glucosa
^{18}F -FDS	2- [^{18}F] fluoro-deoxisorbitol
IAAS	Infecciones Asociadas a la Atención en Salud
mCi	miliCurio
SUV	Valor Estandarizado de Absorción
$T_{1/2}$	Tiempo de vida media
keV	<i>Kiloelectrovoltios</i>
MBq	<i>MegaBequereles</i>
mSv	<i>miliSieverts</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
CCF	Cromatografía en Capa Fina
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
BLEE	Betalactamasas de Espectro Extendido
CRE	<i>Enterobacteriaceae</i> Resistente a Carbapenémicos
CPE	<i>Enterobacteriaceae</i> Productoras de Carbapenemasas
BGN	Bacterias Gram Negativa

4. RESUMEN

Los *Enterobacterales* son un amplio grupo de bacterias Gram negativas, algunas especies forman parte del microbioma intestinal de los humanos y algunos animales. Actualmente, representan un problema para la salud pública y un reto en la práctica clínica diaria, debido al aumento de la resistencia a los antibióticos disponibles para su tratamiento y las altas tasas de morbilidad y mortalidad reportadas en todo el mundo. Este tipo de infecciones están íntimamente relacionadas con las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) y representa un gran número de las mismas. Hasta el momento, el diagnóstico para estas infecciones bacterianas continúa siendo la identificación microbiológica que puede tardar entre 3 o 4 días, desde la obtención de la muestra biológica del sitio donde se sospecha la infección hasta su identificación. Sin embargo, esta metodología presenta algunas limitaciones como la necesidad de obtener una muestra clínica para aislar e identificar el agente causal de la infección, lo cual no siempre es posible o fácil de obtener; ya sea por desconocer la localización exacta del lugar de infección o por requerir procedimientos invasivos que representan más riesgos que beneficios para el paciente.

Teniendo en cuenta lo anterior, urge la necesidad de desarrollar nuevos métodos de diagnóstico rápidos y específicos que permitan identificar las infecciones causadas por los *Enterobacterales* en un menor tiempo y con mayor sensibilidad. Por esta razón un grupo de investigadores identificó el radiotrazador ^{18}F - Fluorodeoxisorbitol conocido como (^{18}F -FDS); sustrato metabólico específico para los *Enterobacterales*, el cual a través del operón *srl* conformado por 3 subunidades constituyen el sistema de fosfotransferasa dependiente de sorbitol, el cual permite el ingreso del sorbitol al interior de la bacteria para ser metabolizado vía glicolisis (1). Posteriormente experimentos (*in vitro*) utilizando diferentes familias de bacterias y líneas celulares eucariotas, permitieron determinar su absorción y establecer la especificidad para este tipo de bacterias, al igual que experimentos (*in vivo*) en un modelo de infección murino, permitieron distinguir correctamente los focos de infección causados por *Enterobacterales* de sitios con inflamación estéril e infecciones causadas por otros tipos de bacterias (2). Posteriormente realizaron estudios de Tomografía por Emisión de Positrones (PET) y Tomografía Computarizada (TC) con ^{18}F -FDS en personas sanas sin focos de infección para analizar su biodistribución y dosimétrica, obteniendo excelentes resultados que

permitieron determinar la actividad radioactiva que se debe inyectar de ^{18}F -FDS y garantizar el uso seguro en humanos (3). A partir de los anteriores resultados se planteó como un posible radiotrazador PET candidato para identificar focos de infección específicos originados por los *Enterobacterales*.

Razón por la cual; el objetivo principal de esta investigación fue evaluar la utilidad diagnóstica del radiotrazador ^{18}F -FDS utilizando la técnica PET/TC en 13 pacientes hospitalizados mayores de edad, con alta sospecha clínica de infecciones causadas por *Enterobacterales*, atendidos en la Fundación Cardiovascular de Colombia (FCV) entre los años 2018-2020, además evaluar la respuesta a la antibioticoterapia una vez finalizaran el tratamiento, mediante un segundo estudio de control PET/CT con ^{18}F -FDS.

Este estudio inicio con la estandarización de la síntesis del radiotrazador del ^{18}F -FDS, a partir de la reducción química de 18- Fluorodexosiglucosa (^{18}F -FDG); radiotrazador ampliamente utilizado en la práctica clínica diaria de la Medicina Nuclear, una vez culminada esta etapa se da inicio a la búsqueda de los participantes con alta sospecha de infección causada por *Enterobacterales* que cumplieran con los criterios de inclusión previamente definidos por el grupo de investigadores y aprobados por el Comité de Ética de la Fundación Cardiovascular de Colombia (FCV) para realizar los estudios PET/TC con ^{18}F -FDS y finalmente, analizar cada una de las imágenes moleculares obtenidas de los participantes que permitiera localizar el lugar exacto de la infección junto con la confirmación microbiológica. Además, realizar un segundo estudio de control PET/TC con ^{18}F -FDS post antibioticoterapia que evaluará la evolución de la misma.

La correcta estandarización de la síntesis del ^{18}F -FDS y el análisis preciso de las imágenes moleculares obtenidas mediante PET/TC permitieron identificar de manera rápida y específica los focos de infección formados por los *Enterobacterales* en los 13 participantes junto con la confirmación microbiológica y adicionalmente evaluar la respuesta al tratamiento antibiótico mediante un segundo estudio de control PET/TC con ^{18}F -FDS que permitió ver el efecto de la antibioticoterapia y evolución de los focos de infección identificados inicialmente. Además, analizar en qué casos puede ser de mayor utilidad clínica la realización del estudio PET/CT

con ^{18}F -FDS para que en un futuro pueda ser implementado durante la práctica de la Medicina Nuclear (4).

Los resultados producto de esta tesis permitieron (I) realizar la correcta síntesis de ^{18}F -FDS a partir de ^{18}F -FDG de manera rápida, segura con alta calidad radioquímica y microbiológica (II) Evaluar la utilidad clínica del radiotrazador ^{18}F -FDS el cual mostró selectividad bacteriana para identificar de manera rápida focos de infección causados por *Enterobacterales* en diferentes tejidos y microambientes del cuerpo, sin que se vea afectada su absorción por la localización de la infección, (III) Analizar mediante imágenes moleculares (*in vivo*) la evolución de los focos de infección causados por *Enterobacterales* después de la antibioticoterapia. Además, evaluar sus posibles aplicaciones clínicas tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de las infecciones, (4) Describir la importancia clínica de las Infecciones Asociadas Atención en Salud y su relación con los *Enterobacterales*.

Por último, es importante resaltar que este estudio es el primero en su clase realizado en el mundo; en donde se está evaluando la utilidad clínica del estudio PET/TC con ^{18}F -FDS en humanos infectados por *Enterobacterales*, el cual será de referencia en el futuro para el desarrollo nuevos estudios clínicos con ^{18}F -FDS y su implementación en Medicina Nuclear.

Palabras clave: Infección, Tomografía por Emisión de Positrones, Enterobacterales, [^{18}F]-Fluorodeoxisorbitol.

5. ESTADO DEL CONOCIMIENTO

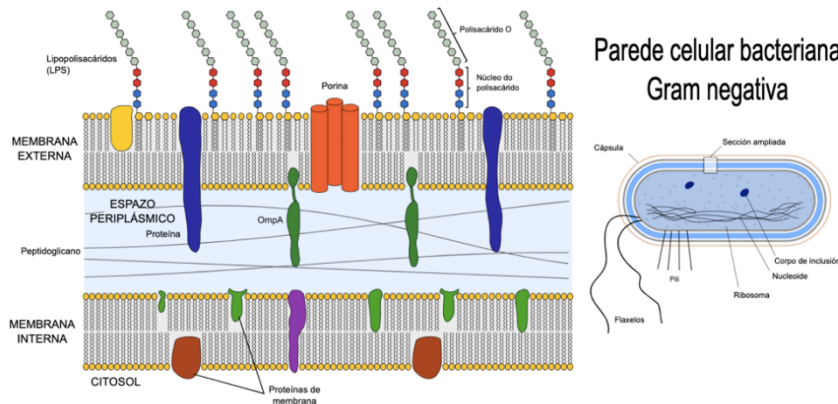
5.1 *Enterobacterales*

Los Enterobacterales constituyen un amplio y heterogéneo grupo de bacilos Gram negativos, conformado por más de 60 géneros y 100 especies (5). Algunas especies de esta familia de bacterias se localizan principalmente en el tracto gastrointestinal de los humanos formando parte de su microbiota, otras especies se han encontrado de forma ubicua en agua, suelos, plantas y algunos animales (6).

Actualmente los *Enterobacterales* se han clasificado en 7 familias, basado en la secuenciación del ARN ribosomal 16S; las cuales son (*Budviciaceae*, ***Enterobacteriaceae***, *Erwiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae*, *Pectobacteriaceae* y *Yersiniaceae*) entre ellas se han descrito más de 250 especies, lo cual la convierte en una de las familias bacterianas con mayor diversidad taxonómicamente reconocida en la actualidad <https://lpsn.dsmz.de/order/enterobacterales> (7).

Se caracterizan por ser bacilos pleomórfico con un tamaño entre 2-3 μm , no esporulados, catalasa positiva en su mayoría, oxidada negativa, reducen nitratos a nitritos pueden fermentar glucosa con o sin formación de gas, ser inmóviles o móviles por la presencia de flagelos peritricos, tienen una pared celular más compleja comparada con las bacterias Gram positivas, compuesta por una membrana interna citoplasmática, seguida de una capa delgada de peptidoglicano y una bicapa lipídica externa que forma una estructura rígida donde se encuentran los lipopolisacáridos y las porinas que sirven de canales de penetración de nutrientes y paso de antibióticos (Figura 1) (9).

Figura 1. Pared celular bacteriana Gram negativa. Tomado de: (10)



La familia *Enterobacteriaceae* está conformada por diversos géneros y especies de bacilos Gram negativos patógenos para el ser humano (11) . Algunas especies se han adaptado al ser humano y se consideran patógenos primarios como (*Shigella* spp., varios serotipos de *Salmonella*, *Yersinia pestis*), mientras que otras (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Morganella morganii*, *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Serratia* spp., etc.) aunque forman parte del microbioma, pueden tener comportamientos como patógenos oportunistas (5). Su principal mecanismo de transmisión se produce a través de las manos del personal de la salud que se coloniza cuando entra en contacto con secreciones de pacientes que a su vez están colonizados por estas bacterias.

Algunas *Enterobacteriaceae* tienen enzimas que son proteínas bacterianas con actividad enzimática como las (proteasas, hialuronidasas, neuraminidasas, elastasas y colagenasas) su función es facilitar el ingreso y diseminación local en los tejidos. Los microorganismos invasores (p. ej., *Shigella flañera*, *Yersinia enterocolitica*) pueden penetrar y atravesar las células eucariotas intactas e ingresar a través de la superficie de mucosas. También pueden tener betalactamasa cromosómica de clase A o C y expresarlas de forma basal o aumentar bombas de expulsión activa, lo que determina una resistencia intrínseca a diferentes antimicrobianos (12).

Además, se pueden seleccionar con facilidad mutaciones cromosómicas en los genes que codifican las topoisomerasas de clase II; relacionadas con la resistencia a quinolonas o las porinas responsables de un ligero incremento del nivel basal de resistencia a múltiples compuestos (13).

Adquieren fácilmente plásmidos (ADN extracromosómico) que se replica de manera autónoma y codifican para betalactamasas y mecanismos de resistencia a aminoglucósidos (enzimas

modificadoras y metilasas), a quinolonas (proteínas Qnr.) (14,15) otros grupos de antimicrobianos clínicamente relevantes. La mayoría de los estudios se han relacionado con la multirresistencia en *Enterobacteriaceae* con la presencia de betalactamasas adquiridas, en especial las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), las cefamicinasas (enzimas de clase C) plasmidicas y las carbapenemasas¹⁰.

Las *Enterobacteriaceae* productoras de BLEE se describieron inicialmente en España en 1988, poco después de su detección inicial en Alemania y Francia (*K. pneumoniae* y *E. coli*) fueron las especies de mayor importancia en cuanto a la producción de BLEE, causando brotes nosocomiales en grandes hospitales, principalmente en unidades de cuidados intensivos, quirúrgicas y neonatales (12,16). Sin embargo, en los últimos años han cobrado gran relevancia para las infecciones de origen estrictamente comunitario (en especial por *E. coli*) y por otras especies como *Enterobacter* spp., *Proteus mirabilis* y *Salmonella* (17).

5.2 Manifestaciones clínicas

Actualmente se han descrito alrededor de 20 géneros de importancia clínica para el hombre (11). Algunas especies son patógenas y otras comensales estables o transitorias del tracto digestivo, tienen la capacidad para producir infecciones oportunistas siempre que existan factores predisponentes locales, todos aquellos que rompen las barreras físicas constituidas por la piel y las mucosas como las heridas, quemaduras, cirugías, catéteres o las fisiológicas del tracto respiratorio (intubación) de la vía urinaria (sondas) o de la vía genital (dispositivos intrauterinos), así como factores generales que causan con una limitada respuesta del sistema inmune en el individuo; ya sean por algunos factores externos como el estrés, medicamentos, contaminación u otros derivados por alguna enfermedad crónica (18). En general esta familia de bacterias es capaz de originar infección en cualquier parte del cuerpo, debido los factores de virulencia que poseen, esenciales para la producción de diferentes síndromes clínicos, algunos favorecen la invasión y la evasión de la respuesta inmune. Regularmente este tipo de infecciones ocurren en pacientes con largas estancias hospitalarias, tratados por tiempos prolongados con antibióticos de amplio espectro, inmunosuprimidos o con enfermedades crónicas como el cáncer, la diabetes entre otros (18) (Tabla 1).

La interacción de los *Enterobacterales* con el huésped puede ser muy variable dependiendo de factores exógenos como las características del microorganismo la cantidad del inóculo y factores endógenos dependientes del huésped y respuesta inmune (19). El equilibrio establecido entre los factores de patogenicidad o virulencia del microorganismo y los factores del huésped representados por su respuesta inmune "defensiva" tendrá como consecuencia que relación se establezca, ya sea colonización o como infección; para el primer escenario (el microorganismo vive y se multiplica en el huésped sin causar daño, en una relación de tipo comensalismo), como infección clínica o latente (cuando se limita por la respuesta inmune del huésped, ocasionalmente originado el estado de portador) o en el segundo escenario dará lugar a una enfermedad infecciosa con la expresión clínica de un variado conjunto de signos y síntomas que se reflejan tanto por el daño producido por el microorganismo patógeno como el resultado de la inflamación resultante producida por la respuesta del huésped (20).

En la mayoría de los casos las infecciones por *Enterobacterales* son consideradas de tipo endógeno y pueden ocurrir como consecuencia de una disbiosis en la microbiota del Tracto Gastrointestinal (TGI) (21,22), condición que lleva a un desbalance del equilibrio microbiano en el TGI; provocando una alteración en la composición de bacterias que va tener como consecuencia un aumento en la permeabilización de la mucosa intestinal permitiendo el paso de ciertos *Enterobacterales* al torrente sanguíneo, rápidamente son transportadas a través de la sangre y tienen la capacidad de formar nuevos focos de infección en cualquier parte del cuerpo o órganos estériles donde normalmente no se encontraban, pueden considerarse a su vez bacterias oportunistas comunes causando infección en individuos inmunosuprimidos. Además, tienen la capacidad de formar focos de infección profundos en órganos de difícil acceso, por ejemplo; abscesos cerebrales, hasta infecciones superficiales en tejidos blandos de poca o amplia extensión, con mayor frecuencia se ha observado esta infecciones en pacientes con tumores sólidos que están siendo tratados con quimioterapia o radioterapia y pacientes atendidos en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) causando un gran porcentaje de las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) o también conocidas como infecciones nosocomiales (19).

Tabla 1. Factores de riesgo para colonización o infección por *Enterobacterales*. Tomado de (14).

Adquisición Comunitaria	Adquisición Hospitalaria
Tratamiento antibiótico (fluoroquinolonas y cefalosporinas)	Administración previa de antibióticos
Estancia previa en una en Unidad de cuidados Intensivos	Estancia hospitalaria prolongada
Hemodiálisis	Estancia prolongada en UCI
Uso de glucocorticoides	Presencia de catéteres venosos centrales o arteriales, sonda uretral
Enfermedades de base: diabetes, tumores sólidos, cirrosis	Ventilación mecánica
Presencia de sonda de gastrostomía o yeyunostomía	Cirugía abdominal urgente
Obstrucción de vía urinaria. Catéteres urinarios	Sonda de gastrostomía o yeyunostomía
	Bajo peso al nacer
	Gravedad de la enfermedad de base
BLEE: Betalactamasa de espectro extendido	UCI: Unidad de cuidados intensivos

5.2.1 Infecciones gastrointestinales

Este tipo de infecciones ocurre normalmente por el consumo de agua o alimentos contaminados (huevos o productos lácteos) con *Enterobacterales*. Algunos de los más comunes para este tipo de infección en humanos son *Salmonella tiphy* y *Salmonella paratiphy*, los síntomas generalmente aparecen entre las 6 a 48 horas después de haber ingerido el alimento contaminado, presentando náuseas, vómito, dolor abdominal tipo cólico, diarrea, mialgias, fiebre y dolor de cabeza. En pacientes inmunosuprimidos los síntomas suelen acompañarse de bacteremia, osteoartritis, endocarditis o infección en prótesis vasculares. Estos pueden persistir durante 2 a 7 días antes de la resolución espontánea y aproximadamente el 1% de los pacientes con fiebre entérica se convierten en portadores crónicos al alojar la bacteria en la vesícula biliar y eliminarlo por las heces durante varios años (22–24) .

5.2.2 Infecciones de tracto respiratorio

Clásicamente este tipo de infecciones respiratorias ocurre en pacientes inmunocomprometidos o con estancias hospitalarias prolongadas, que hayan sido sometidos a alguna intervención quirúrgica, en la cual fue necesario el uso prolongado de antibióticos de amplio espectro o el empleo de ventilación mecánica con dispositivos como el tubo traqueal, afectando la barrera de la mucosa respiratoria, condición que con el uso prolongado se convierten en un factor de riesgo para que desarrollen infecciones respiratorias, puede iniciar con una traqueítis hasta convertirse en neumonía. Las *Enterobacteriaceae* más comunes causando infecciones respiratorias son *E. coli* y *K. pneumoniae*, es importante resaltar que estas bacterias pueden causar neumonías adquiridas en la comunidad, en las cuales los síntomas respiratorios van acompañados de fiebre y consolidaciones pulmonares que pueden ser identificadas por radiografía de tórax con síntomas que se presentan a las horas o días antes de haber ingresado alguna institución prestadora del servicio de salud sin tener antecedentes de alguna intervención médica o atención hospitalaria reciente (25,26).

5.2.3 Infecciones de tracto urinario

Un alto porcentaje de *Enterobacteriaceae* producen infecciones urinarias, siendo *Escherichia coli* una de las especies más común representando aproximadamente el 80% de las Infecciones de las Vías Urinarias (IVU), se localiza principalmente en el colon y posteriormente contaminan la uretra, ascienden a la vejiga y pueden migrar al riñón o a la próstata. Esta especie en particular tiene la capacidad de producir algunas adhesinas (P pili, AAF / I, AAF / III y Dr), las cuales le permiten adherirse a las células que recubren la vejiga y tracto urinario superior, evitando de esta manera ser eliminada durante la evacuación de la orina, también producen la hemolisina HlyA; que le da la capacidad de lisar los eritrocitos y células a su alrededor desencadenando la liberación de citoquinas, estimulando una respuesta inflamatoria y hematuria como consecuencia de la IVU (27,28).

5.2.4 Infecciones de torrente sanguíneo

La infección del torrente sanguíneo (ITS) ocurre como resultado de la diseminación de un foco de infección primario; ya sea de origen gastrointestinal, respiratorio, urinario o por la contaminación

de catéteres intravenosos u otros dispositivos médicos contaminados con *Enterobacteriaceae*. Las cuales se diseminan a través del torrente sanguíneo causando bacteriemias.

Las bacteriemias se clasifican de acuerdo a su duración ya sean; continuas: donde las bacterias persisten en el torrente sanguíneo y se trata de una infección de origen intravascular. Intermitente; las bacterias aparecen y desaparecen de forma interrumpida, hasta que se elimine por completo el foco de infección. Transitorio; aparecen algunas bacterias momentáneamente como producto de una herida superficial o manipulación de mucosas y desaparece a las pocas horas. De acuerdo con la persistencia de las bacterias en el torrente sanguíneo y todo el cuadro clínico de cada individuo, pueden ser infecciones de fácil o difícil manejo clínico con pobre pronóstico (29,30) .

La ITS en algunos casos pueden considerarse una condición clínica grave que empeora el pronóstico de la sepsis porque aumenta el tiempo de estadía hospitalaria, los costos de su atención y mortalidad. Específicamente, se considera que la mortalidad atribuible a la ITS en la sepsis varía entre el 7 % y 40% según la población que se estudie. Diferentes estudios epidemiológicos de la ITS en los Estados Unidos de América (EUA) y Europa, con pacientes registrados en bases de datos nacionales o en programas de vigilancia activa (31). Se estima que en EUA se presentan entre 575.000 y 677.000 episodios de ITS por año con 79.000 a 94.000 muertes por esta causa; y en Europa un millón doscientos mil episodios de ITS con 157.000 muertes por año. La mortalidad reportada varía en general entre 13,6 % y 45% (32). A través de los años se ha observado un incremento en la incidencia de ITS y un cambio en el tipo de microorganismos predominante. Sin embargo, en la mayoría de los casos predominan los bacilos Gram negativos y recientemente los cocos Gram positivos (33). Igualmente, se han descrito un aumento de los microorganismos multiresistente a partir de los años 90 (34), en muchos casos asociadas al uso de catéteres intravasculares. (35,36). Las especies de mayor importancia para el hombre, de acuerdo con su género y patología aparecen en la (Tabla 2).

Tabla 2. *Enterobacterales* de importancia clínica, tomado de (36).

Patógenos primarios		
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i> (ECEP, ECET, ECEA, ECEH y ECEI) ¹	Gastroenteritis
<i>Salmonella</i>	<i>S. enterica</i>	
	Serotipos: Enteritidis, Typhimurium y otros	Gastroenteritis
	Serotipos: Typhi, Paratyphi A, B y C	Fiebres tifoidea y paratifoidea
<i>Shigella</i>	<i>S. flexneri</i> , <i>S. sonnei</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. dysenteriae</i>	Enteritis
<i>Yersinia</i>	<i>Y. pestis</i>	Peste
	<i>Y. enterocolitica</i>	Enteritis
	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	Adenitis mesentérica
<i>Klebsiella</i>	<i>K. granulomatis</i>	Granuloma inguinal
Comensales (patógenos oportunistas)		
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	Infecciones oportunistas
<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i>	
<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i> , <i>E. aerogenes</i>	
<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i>	
<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i> , <i>C. koseri</i>	
<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis</i>	
<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i>	

¹Grupos de *E. coli*: Enteropatógenos (EPEC), Enterotoxigénicos (ETEC), Enteroinvasivos (EIEC), Enteroagregativos (EAEC), productora de toxinas shiga/verotoxinas Enterohemorrágicos (EHEC).

5.3 Epidemiología

Las infecciones por *Enterobacterales*, sigue siendo la causa más común de infecciones bacterianas causadas por bacterias Gram negativas a nivel mundial (37). Representa actualmente un problema de salud pública debido al aumento de aislamientos resistentes a múltiples fármacos usados para su tratamiento, relacionado con alta tasas de mortalidad en todo el mundo⁴¹, como consecuencia de tratamientos prolongados con antibióticos, uso de antibioticoterapia empírica y aumento de enfermedades crónicas entre otras causas. En especial las *Enterobacteriaceae* hacen parte de las 12 familias de bacterias que amenazan la salud humana, por esta razón es imprescindible generar nuevos antibióticos como lo indica la Organización Mundial de la Salud (OMS) (38). Se estima que de no tomar las medidas necesarias para evitar el aumento de infecciones por bacterias resistentes podría llegar a causar aproximadamente 10 millones de muertes por año en el 2050 (39). Datos a nivel mundial reportan una disminución significativa en la susceptibilidad a los β -

lactámicos antibióticos disponibles para su tratamiento y aumento significativo en la dispersión de *Enterobacterales* Productoras de β -lactamasas de Espectro Extendido (BLEE), las cuales son codificadas por plásmidos y cefalosporinas *AmpC* que desencadenan una hiperproducción de enzimas en el cromosoma induciendo o reprimiendo estos genes que les confieren resistencia a esta clase de antibióticos (40).

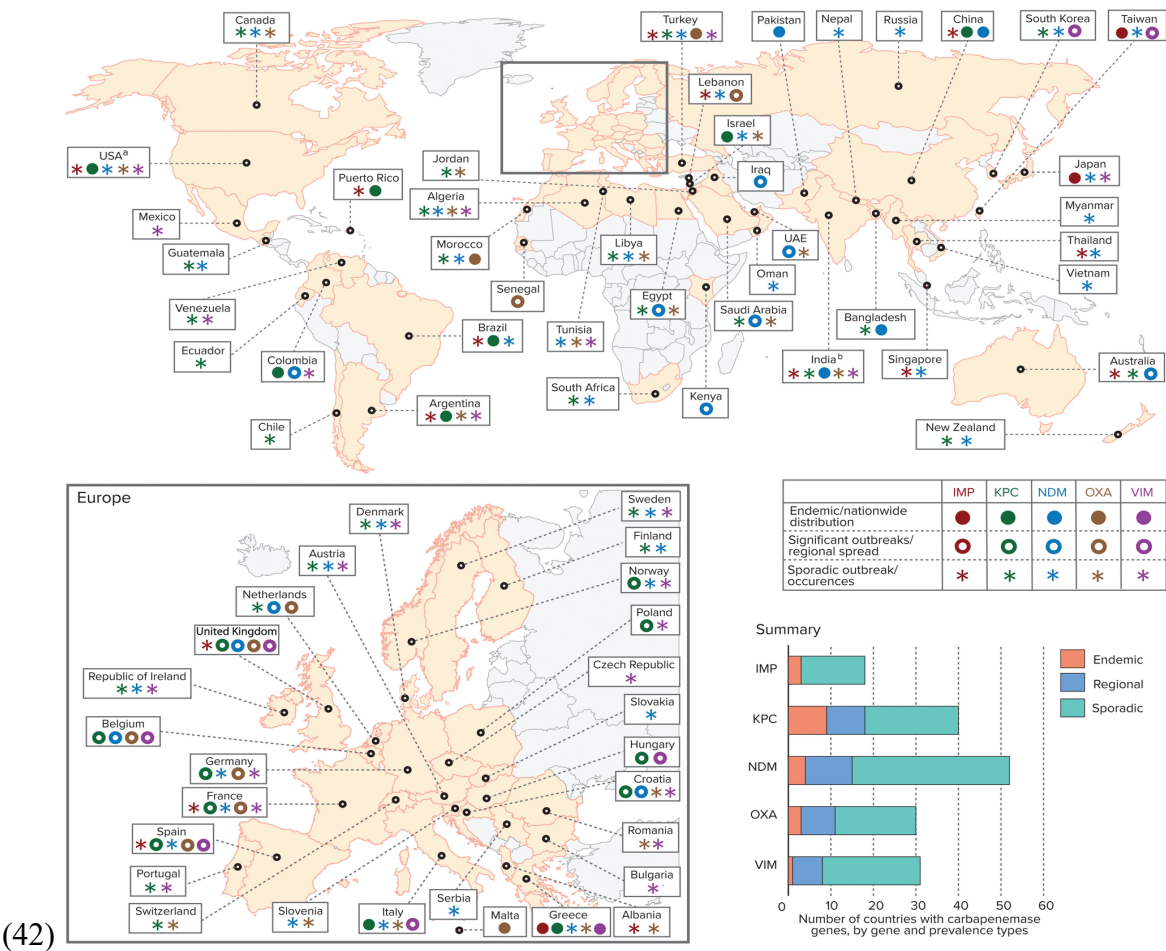
En un estudio multicéntrico realizado en España en el año 2000 el 93% de *K. pneumoniae* BLEE se aislaron en pacientes hospitalizados, pero el 51% de *E. coli* con BLEE se aislaron en pacientes que en el momento de toma de la muestra clínica no estaban hospitalizados. Varios autores han descrito un aumento significativo en el número de portadores fecales de BLEE en la comunidad, lo que podría incrementar la probabilidad de colonización para otros individuos (14). En este sentido se describe describen que la colonización fecal con *Enterobacterales* productoras de BLEE aumentó significativamente en pacientes hospitalizados y ambulatorios, de 0,3 a 0,7%, respectivamente en 1991 de 5,5 a 11,8% en el 2003. La tasa de colonización entre voluntarios sanos fue de 3,7% (41). Las cepas productoras de BLEE son en términos generales resistentes a penicilinas, cefalosporinas (excluidas cefamicinas, que no se hidrolizan por estas enzimas) y monobactámicos. Además, las cepas productoras de BLEE también presentan altos niveles de resistencia a quinolonas y aminoglucósidos.

La Resistencia bacteriana a Carbapenémicos (CRE). es un problema que afecta a toda la población, prolongando la duración de las enfermedades y aumentando el riesgo de muerte, causando adicionalmente pérdidas económicas significativas en los sistemas de salud. En los últimos años ha observado el aumento de la incidencia de infecciones causadas por bacterias Gram negativas resistentes a multiplex fármacos, en las que se incluyen *Enterobacterales* Multirresistentes (MR), *Pseudomonas aeruginosa*-MR y *Acinetobacter baumannii*-MR (37,42). Estos microorganismos generalmente están implicados en infecciones graves, por lo que actualmente suponen un gran problema para los sistemas de salud. Las infecciones que causan tienen un peor pronóstico que las debidas a patógenos susceptibles antimicrobianos, debido en parte a que los tratamientos muchas veces son instaurados antes de conocer los resultados microbiológicos que orienten o confirmen el agente etiológico que está causando la infección para un importante número de casos. Aunque

algunos estudios no encuentran esta relación, esto podría explicarse porque generalmente incluyen series de pacientes tratados correctamente y de forma temprana (42,43).

Es importante los hallazgos que se tiene hasta el momento sobre la dispersión de estas bacterias, solo en Estados Unidos se han reportado 2 millones de personas infectadas con *Enterobacterales* cada año, con al menos 23,000 muertes como resultado directo de estas (44). En Latinoamérica ha habido un aumento constante en la prevalencia general y en el número de tipos de BLEE detectados. De acuerdo con los datos de vigilancia de toda la región (es decir, SENTRY, TEST, SMART, OPS y API) y los hallazgos de estudios de cohortes independientes de países específicos, Los estudios concluyen igualmente que la infección causada por *Enterobacterales* productoras de BLEE, particularmente *K. pneumoniae*, son altas en América Latina en comparación con otras regiones del mundo (41).

Figura 2. Distribución global de *Enterobacteriaceae* resistentes a carbapenemasas. Tomado de



En Colombia los *Enterobacterales* más frecuentes son (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp y *Enterobacter* spp) aparecen en los primeros lugares causando Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) e infecciones adquiridas en la comunidad (45). Estas bacterias pueden desarrollar resistencia a carbapenémicos como (Ertapenem, Imipenem, Meropenem y Doripenem) por una combinación de mecanismos que incluye la producción de enzimas hidrolíticas (como las betalactamasas de espectro extendido o BLEEs, las cefalosporinas *AmpC* y las carbapenemasas) y las mutaciones en proteínas de la membrana externa (46).

Desde su aparición en 1996, las carbapenemasas han sido las enzimas más amenazantes por su diseminación y alta mortalidad, denominadas: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) Verona integron-mediated metallo- β -lactamase (VIM), New Delhi metallo- β -lactamase (NDM), Imipenemase (IMP) y oxacillinase-48-like carbapenemase (OXA-48) (47) . En 2006 se reportó por primera vez la presencia de carbapenemasas en Colombia correspondiente a una KPC-24 . Desde entonces, varios reportes de diversas enzimas han sido publicados por grupos de investigación y por el Instituto Nacional de Salud (INS) en su último informe el 66% de los *Enterobacterales* fueron resistentes a carbapenémicos expresan KPC, 23% expresan NDM y 6% expresan VIM (48) .

En los sistemas de salud la resistencia a carbapenémicos aumenta los costos de atención, la estancia hospitalaria y la mortalidad. Las opciones terapéuticas son escasas debido a que los elementos genéticos móviles que transportan betalactamasas llevan además determinantes de resistencia de otras familias de antimicrobianos. Las polimixinas (Polimixina B y Colistina), tigeciclina, fosfomicina y los aminoglucósidos son muchas veces las únicas opciones para su tratamiento (49) .

Son varios los desafíos que se enfrentan en el diagnóstico, no existen una prueba de laboratorio 100% sensible y específica para detectar todas las familias de carbapenemasas ni todas las variantes alélicas conocidas. Si bien el diagnóstico oportuno es determinante en la supervivencia y una herramienta fundamental para el control de las infecciones, las pruebas rápidas de alto desempeño tienen generalmente un alto costo. Preocupa cada vez más la aparición de *Enterobacterales* productores de Carbapenemasas (KPC) con pruebas positivas para BLEEs

que confunden la aproximación terapéutica o con resultados de completa sensibilidad a cefalosporinas de 3º y 4º generación y carbapenémicos aun aplicando los puntos de corte CLSI vigentes (50,51) . Esto favorece una diseminación “silenciosa” de estas enzimas, ya que no todos los laboratorios tienen disponibles pruebas confirmatorias (52).

5.4 Diagnóstico

El diagnóstico de *Enterobacterales* se basa principalmente en el aislamiento e identificación microbiológica de la bacteria a partir de sangre, tejidos tomados asépticamente en necropsias o de las heces de frotis rectales, muestras ambientales, productos alimenticios o de pienso. El método tradicional de aislamiento e identificación bacteriana consiste en proporcionar a las bacterias las condiciones físicas, químicas y nutritivas adecuadas para que se multiplique de forma controlada, este crecimiento bacteriano puede tomar entre 12 a 48 horas (36).

En la actualidad, dada la necesidad de acortar el tiempo de identificación bacteriana, existen métodos novedosos para la identificación de *Enterobacterales*. Uno de ellos es el empleo de un biosensor, esta prueba utiliza cultivos líquidos donde se genera luz cuando las enzimas que son características de las bacterias reaccionan con sustratos especializados mediante una reacción bioluminogénica. El tiempo aproximado de la obtención de resultados es de 8 horas por lo que se ha convertido en un método científicamente válido para la identificación de *Enterobacterales* en un menor tiempo a partir de una muestra clínica (53). Para su identificación microbiológica se han descritos algunos medios cromogénicos selectivos como el CHROMID® ESBL (BioMérieux, Durham, NC, USA) permite el crecimiento beta lactamasas de espectro extendido (ESBL) (54).

En los distintos métodos se acostumbra a realizar el diagnóstico de *Enterobacterales* a partir de materia fecal cuyo análisis consiste en realizar un examen en fresco y coloración de Gram, siembra en Agar E.M.B. y Agar Salmonella Shigella, incubación en 24 horas a 37°C, pruebas bioquímicas, identificación serológica y antibiograma. Por otra parte, para las muestras extra-intestinales su ruta diagnóstica corresponde con un examen en fresco y coloración de Gram, siembra en Agar E.M.B. y Agar sangre, se incuba 24 horas a 37°C, se realiza la pruebas bioquímicas y antibiograma. Sin embargo, además de los métodos empleados para la detección de *Enterobacteriaceae* y su diagnóstico se debe tener en cuenta realizar una correcta toma de la muestra, la necesidad de

garantizar que esta represente el lugar de la infección y en lo posible que sea significativa, de esta manera se garantiza la recuperación del microorganismo que está causando la infección y se garantiza la viabilidad de este para obtener un crecimiento bacteriano representativo que permita realizar pruebas posteriores de susceptibilidad antimicrobiana (55) .

Aunque las pruebas microbiológicas pueden tardar varios días, son fundamentales para la correcta interpretación clínica e instauración de la antibioticoterapia, por esta razón es fundamental realizar una correcta toma de la muestra clínica que facilite la verdadera identificación del patógeno está causando la infección, aún más en caso de tratarse de una infección polimicrobianas donde puede aislarse múltiples bacterias que enmascaran el verdadero agente causal de la infección.

Las herramientas moleculares han sido utilizadas ampliamente usadas el diagnóstico virológico desde hace más de una década. Sin embargo, para el estudio de la resistencia bacteriana, especialmente, la resistencia a carbapenémicos, solo hasta ahora se están desarrollando estrategias a nivel de diagnóstico que puedan estar disponibles en las instituciones de salud.

5.5 Tratamiento

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente, caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico, generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de estos, así como por la presión evolutiva que se ejerce su uso terapéutico (56). Los antibióticos β -lactámicos, continúan siendo el grupo de antibióticos más utilizado, debido a su amplio espectro, eficacia, pocos efectos colaterales y escasa toxicidad. La resistencia a los antibióticos β -lactámicos e inhibidores de β -lactamasas, constituye un problema clínico creciente en todo el mundo. Sobre todo, por la producción de carbapenemasas en bacterias Gram negativas convirtiéndose en un gran problema de salud pública en todo el mundo, debido a los altos costos para su tratamiento y la necesidad de combinar múltiples fármacos para que su tratamiento sea efectivo (57,58).

Es de anotar que las opciones para tratar las infecciones causadas por *Enterobacterales* productoras de BLEE son limitadas, ya que presentan resistencia a la gran mayoría de betalactámicos. Los únicos betalactámicos que mantienen actividad frente a los *Enterobacterales* productoras de estas

enzimas son las cefamicinas, las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas, y los carbapenémicos (14). Como se ha señalado, los plásmidos que codifican las BLEE suelen portar genes de resistencia a ciertos antibióticos y el fenómeno de resistencia cruzada es muy frecuente. Por esas razones, el tratamiento de las infecciones producidas por bacterias productoras de BLEE es un reto para las instituciones de salud (59–61).

Es razonable, por tanto, pensar en la combinación de fármacos para el tratamiento empírico de las infecciones por estos bacilos Gram negativos multirresistentes en individuos con enfermedades graves. El tratamiento con carbapenémicos supone, comparado con otros antibióticos como quinolonas, cefalosporinas de tercera generación o betalactámicos con inhibidores de betalactamasas, un riesgo bajo de fracaso clínico y de muerte en pacientes con infección por *Enterobacteriaceae* productoras de BLEE, por lo que se ha considerado el tratamiento de elección en estas infecciones (60,62). Sin embargo, se recomienda ser prudentes con el empleo de los carbapenémicos, que puedan seleccionar *Enterobacterales* resistentes por alteraciones de la permeabilidad o por carbapenemasas, aunque son infrecuentes, pueden tener evolución impredecible o bacilos Gram negativos no fermentadores multiresistente (57).

Este tipo de infecciones generan un alto costo social y económico en los sistemas de salud, debido a las largas estancias hospitalarias que son requeridas para tratar los pacientes y el uso combinado de diferentes antibióticos por tiempos prologados en las entidades de salud (63). Por esta razón se requiere un proceso coordinado que promueva el uso apropiado de antimicrobianos, esto se refiere a la selección del régimen óptimo, en la dosis correcta y en el tiempo correcto, permitiendo lograr resultados clínicos favorables para el paciente. Esta estrategia está basada en el diagnóstico correcto, que en el modelo convencional puede tardar entre 48 - 72 horas. Durante este tiempo, la decisión clínica de inicio de tratamiento empírico puede ser errónea y generar fallas terapéuticas. Por el contrario, los métodos moleculares están relacionados con el ahorro del tiempo. Con las herramientas moleculares los resultados pueden obtenerse entre 6 a 8 horas, lo cual podría reducir significativamente el tiempo en la implementación de la terapia apropiada, siempre y cuando se tenga acceso a la muestra clínica.

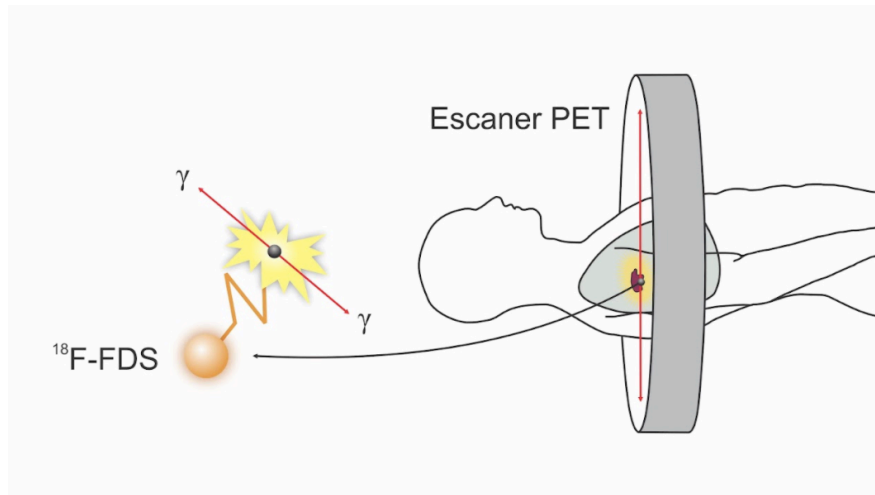
5.6 Medicina nuclear y la Tomografía por Emisión de Positrones (PET)

La medicina nuclear constituye una especialidad del campo de las imágenes médicas que utiliza radioisótopos o radiofármacos con fines diagnósticos y terapéuticos que permiten identificar y realizar seguimiento a diferentes tipos de cáncer, enfermedades cardíacas, endocrinas, neurológicas, inflamatorias, infecciosas, entre otras. El estudio PET/CT de sus siglas en inglés (Positron Emission Tomography / Computerized Tomography), es una técnica híbrida de la medicina nuclear que combina las imágenes moleculares y anatómicas en constante crecimiento, principalmente en el área de las enfermedades infecciosas (64).

Para su realización es suficiente el uso de microdosis de sondas marcadas con radionúclidos, conocidos como radiotrazadores, los cuales normalmente se administran por vía endovenosa se distribuyen por todo el cuerpo hasta llegar a su objetivo, donde se acumulan y emiten señal, permitiendo realizar la reconstrucción de imágenes anatómicas y moleculares que permiten analizar la biodistribución, localización y cuantificación de la molécula de interés, en tejidos y órganos, siendo un método no invasivo con alta sensibilidad y especificidad (65). Herramienta fundamental para el diagnóstico y seguimiento de una gran variedad de enfermedades oncológicas, cardíacas, gastrointestinales, neurológicas e infecciosas (66,67).

El fundamento de este estudio se basa en las propiedades físicas de la emisión de positrones, cuando un positrón; electrón cargado positivamente, es emitido desde el núcleo viaja una corta distancia perdiendo energía hasta que interactúa con un electrón del medio con carga negativa, al colisionar el positrón y el electrón sufren ambos la aniquilación (desaparecen), la masa del electrón y el positrón se convierten en energía generando dos rayos gama cada uno de 511 keV, que viajan en direcciones opuestas a 180^0 , como se observa en la (Figura 3).

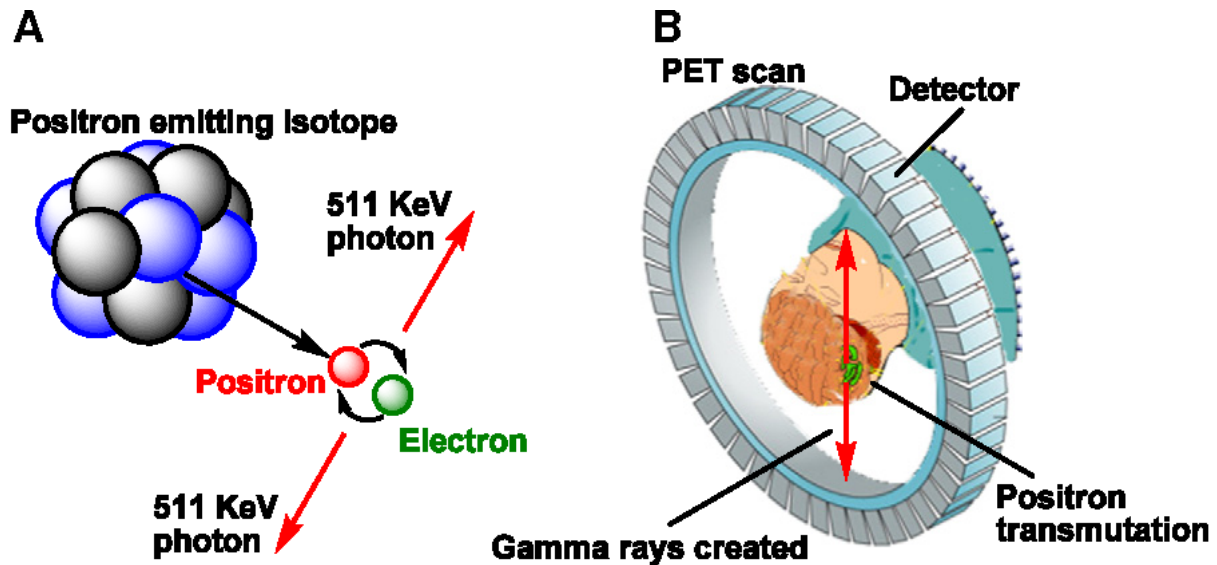
Figure 3. Principio de la Tomografía por Emisión de Positrones, *Álvaro Ordoñez 2021*.



Los fotones que detectan el tomógrafo mediante detectores (formados por cristales de centelleo acoplados a tubos fotomultiplicadores) se disponen en forma de anillos detectores de centelleo alrededor del paciente y se encuentran enfrentados y conectados entre sí, por parejas mediante un circuito de coincidencia. Así, los fotones emitidos en la misma dirección, pero en sentido opuesto, son detectados al mismo tiempo “en coincidencia” y permiten localizar el lugar exacto de un evento fotónico. Para que esta coincidencia sea válida, los dos fotones deben alcanzar los detectores en un intervalo de tiempo preestablecido de nanosegundos, conocido como ventana de coincidencia. Ésta se establece teniendo en cuenta la capacidad que tiene el cristal de centelleo de los detectores para producir luz (68).

En la forma descrita anteriormente, cuanto mayor sea la capacidad del PET menor será el tiempo que necesita el sistema para reconocer el impacto de un fotón y estará en condiciones para recibir el siguiente. Esto afecta claramente en la sensibilidad del tomógrafo, que también se ve influida por la capacidad de extinción de la luz una vez el impacto ha sido reconocido por el sistema. Los cristales de centelleo transforman los fotones en señales eléctricas, permitiendo formar la imagen como está representado en la (Figura 4).

Figura 4. Esquema sobre la adquisición de imágenes PET (69). Tomado de (70)



La resolución temporal del PET/TC está determinada por el tamaño del corte, el tiempo de rotación del gantry y el pitch, que se define como la distancia que existe entre la cama de posicionamiento del paciente y el colimador del haz de rayos X. Actualmente los equipos de TC más recomendados para la adquisición de imágenes tienen entre 16 y 64 cortes y pueden alcanzar una resolución espacial de 4-6 mm, con un tiempo de rotación de 0.33 segundos, lo cual hace posible la adquisición de imágenes en menor tiempo y con imágenes de alta resolución para mayor precisión (71).

El 18-Fluorodeoxiglucosa (^{18}F -FDG) es un análogo fluorado de la glucosa y el radiotrazador de imágenes PET más ampliamente usado en Medicina Nuclear, especialmente en oncología clínica, basándose en el principio que las células inmunitarias aumentan el uso de la glucosa como fuente de energía durante las explosiones metabólicas asociadas a las respuestas inflamatorias durante la infección (72), al igual que órganos como el cerebro y el corazón con mayor absorción fisiológica de glucosa, tienen un metabolismo glucídico elevado característica que es compartida con los tejidos neoplásicos, donde las células tumorales consumen aproximadamente 200 veces más glucosa que una célula eucariota normal, por el aumento de su metabolismo anaeróbico, aumenta la expresión

de transportadores de glucosa (GLU 1- GLU 9) e incorporan mayores cantidades de glucosa (73). Incluso durante la inflamación crónica, el aumento de la glucólisis celular persiste. Por lo tanto, la ^{18}F -FDG tiene potencial para obtener imágenes de infecciones con alta sensibilidad.

De acuerdo a las directrices de la Sociedad de Medicina Nuclear e Imagen Molecular (SNMMI) y de la Asociación Europea de Medicina Nuclear (EANM) recomiendan la PET con ^{18}F -FDG en casos clínicos de osteomielitis ósea periférica, sospecha de infección espinal y fiebre de origen desconocido (FUO) (74). La PET con ^{18}F -FDG también se ha utilizado para controlar a los pacientes con tuberculosis (TB) (75), para diagnosticar infecciones del pie diabético (76). Sin embargo, dado que la ^{18}F -FDG se metaboliza por las mismas vías que la glucosa a través de los transportadores de superficie de glucosa expresados ampliamente en las células eucariotas, la ^{18}F -FDG no es lo suficientemente específica para diferenciar una verdadera infección de un lugar con inflamación estéril. Razón por la cual se ha avanzado en el desarrollo de nuevos radiotrazadores específicos para infecciones bacterianas como el PABA y ^{18}F -FDS que proporcionan ventajas significativas en el diagnóstico de infecciones bacterianas, comparado con los métodos tradicionales disponibles por los laboratorios clínicos para la identificación y confirmación de estas infecciones (77,78).(69)

El ^{18}F Fluorodeoxisorbitol conocido como (^{18}F -FDS) es un alcohol de azúcar, metabolizado por un grupo de bacilos gram negativos conocido como *Enterobacterales*, el ^{18}F -FDS es transportado al interior de las bacterias a través de transportadores fosfotransferasa dependientes de sorbitol para ser metabolizado vía glicolisis, debido a su unión con el flúor 18 queda atrapado metabólicamente dentro de la bacteria, sin ser reconocido por la enzima glucosa 6 fosfato deshidrogenasa. Principio que es utilizado para identificar, localizar y cuantificar la acumulación de sorbitol en tejidos u órganos donde se tenga la presencia de *Enterobacterales* mediante valores estandarizados de absorción (SUV). El primero en radiomarcas el sorbitol fue Li *et al*, mediante una reducción química de ^{18}F -FDG obtuvo ^{18}F -FDS, en tan solo 30 minutos (69). Posteriormente Weinstein y Ordóñez *et al* demostraron que el ^{18}F -FDS se acumula de forma rápida y selectiva en *Enterobacteriaceae* (~1000 veces mayor que en las células de mamíferos), incluidas los aislamientos clínicos resistentes a los fármacos, pero no en las bacterias Gram positivas ni en las células de eucariotas (Figura 5).

Los hallazgos de este mismo grupo de investigadores se extendieron a modelos de coinfecciones mixtas por bacterias Gram positivos y neumonía por *Klebsiella pneumoniae* en ratones sometidos a quimioterapia inmunosupresora (2). Adicionalmente experimento en un modelo de infección murino permitieron identificar focos de infección originados por *E. coli* causando miositis, donde se observó hipercaptación del radiotrazador ^{18}F -FDS en el lugar de la infección por *E. coli* y ausencia de esta señal en sitios con inflamación estéril. Resultados que proporcionaron una visión holística tridimensional dentro del animal permitiendo diferenciar rápidamente el lugar de infección verdadera de sitios con inflamación aséptica; sin presencia de algún patógeno, con un límite de detección de $6,2 \pm 0,2 \log^{10}$ Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para *E. coli* (Figura 6). Consecutivamente Zhu y colaboradores evaluaron la biodistribución y dosimetría del radiotrazador ^{18}F -FDS en humanos sanos sin focos de infección. Los resultados permitieron concluir que la administración del radiotrazador ^{18}F -FDS era segura y bien tolerada en todos los pacientes (Figura 6) (79). Concluyeron que la ^{18}F -FDS es adecuada para ser usada en humanos en términos de dosimetría al descubrir que la dosis efectiva de radiación es comparable con la de otros radiofármacos marcados con flúor 18 como la ^{18}F -FDG con $(0.021 \pm 0.001 \text{ mSv/MBq})$ y la ^{18}F -FDS (0.019 mSv/MBq) (Figura 7) (2,3).

Figure 5. Absorción de ^{18}F -FDS por *Enterobacterales*. Tomado de (2)

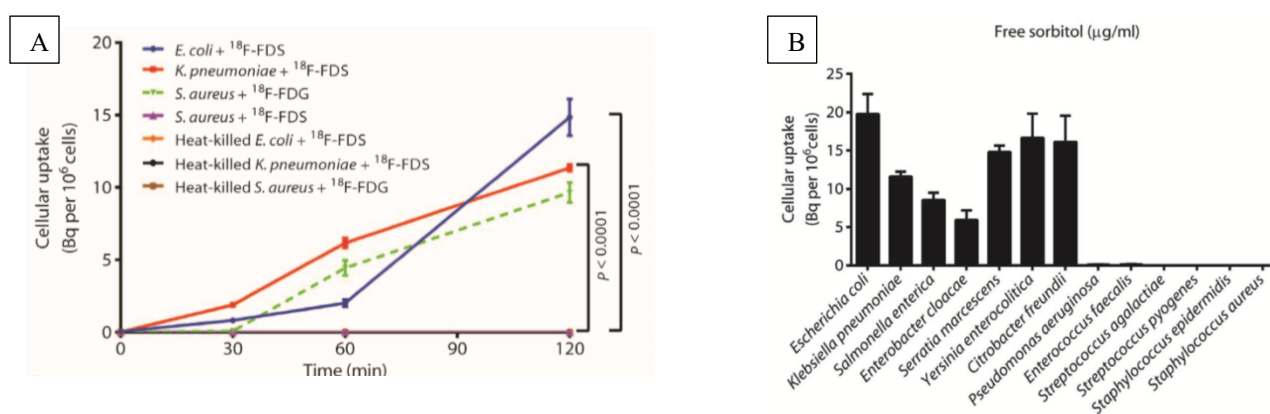
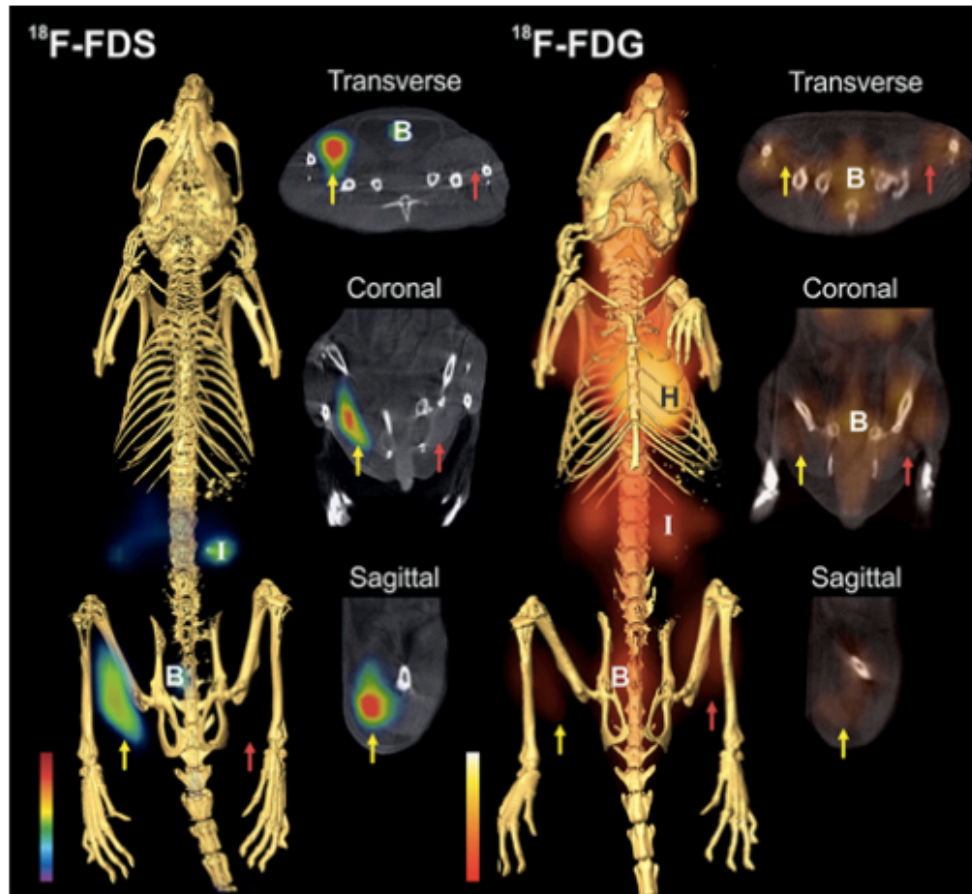
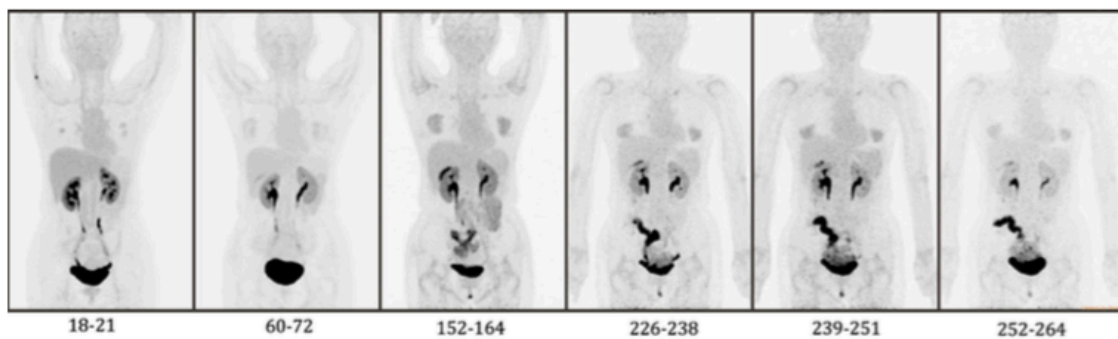


Figure 6. Imágenes de PET/TC ^{18}F -FDS en murinos inmunocompetentes con miositis por *Escherichia coli*. H: Corazón; I: Intestino; BI: Vejiga. Tomado de (80)



→ Sitio de infección por *E. coli* → Muslo estéril con inflamación (control).

Figure 7. Distribución fisiológica ^{18}F -FDS. Tomada de (81).



6. HIPÓTESIS DEL TRABAJO

La PET/TC con ^{18}F -FDS puede ser una técnica útil en el diagnóstico y seguimiento de las infecciones originadas por *Enterobacterales*.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo principal:

Evaluar la utilidad del radiotrazador ^{18}F -FDS por Tomografía por Emisión de Positrones acoplada a Tomografía Computarizada en pacientes con infecciones causadas por *Enterobacterales*.

7.2 Objetivos específicos:

1. Estandarizar la síntesis del radiotrazador ^{18}F -FDS para garantizar la administración segura en pacientes.
2. Evaluar la utilidad del estudio por Tomografía por Emisión de Positrones con ^{18}F -FDS en el diagnóstico y seguimiento de infecciones originadas por *Enterobacterales*.
3. Realizar una descripción epidemiológica y susceptibilidad antimicrobiana de las Infecciones Asociadas con Atención en Salud en pacientes ingresados en un hospital de 3 nivel de complejidad en Colombia.

8. CAPÍTULO I.

Estandarización del radiotrazador ^{18}F -Fluorodexosisorbitol.

8.1 Introducción

8.1.1 Radiotrazadores

En la práctica médica existen diferentes radiotrazadores emisores de positrones, siendo el Flúor 18 (^{18}F) uno de los más usados ya que es capaz de unirse al 2-O-trifluorometilsulfonil manosa para obtener el radioisótopo ^{18}F -FDG. Los radiotrazadores también conocidos como radiofármacos están unidos a un radionúclido que puede ser algún metal radiomarcados como $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{64}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga y ^{111}In estos se caracterizan por tener un decaimiento radiactivo finito, que puede ir desde fracciones de segundo, horas o hasta miles de años. Incluso algunos no se les ha logrado cuantificar experimentalmente su período de desintegración. Actualmente se han descrito en la tierra unos tres mil radionúclidos, de los cuales aproximadamente noventa son teóricamente estables y doscientos cincuenta y cinco no se les ha observado desintegrarse, cerca del 90% son producidos por los humanos (antropogénicos) y unos dos mil con una vida medida inferior a una hora y otros tan inestables que su vida media es muy corta como el carbono, con una vida media de 20.4 minutos o el flúor con una vida media de 109 minutos, siendo el ^{18}F ampliamente usado para radiomarcarse, ya que requiere de cantidades muy pequeñas que están alrededor de partes por trillón; este radiomarcaje requieren de técnicas muy minuciosas que demandan mucha atención en los detalles y considerable práctica en todo el proceso, para proporcionar un radiotrazador que sea químicamente y radioactivamente puro y de alta calidad (82).

Las infecciones originadas por *Enterobacteriales* son de gran importancia clínica, debido a las altas tasas de morbilidad y mortalidad reportadas en todo el mundo, representando un problema para la salud pública y un reto en la práctica clínica diaria. Razón por la cual es fundamental crear nuevas herramientas de diagnóstico rápido y específico que permita localizarlas rápidamente. Algunas técnicas de imágenes anatómicas como los rayos x, las imágenes por ultrasonografía, la tomografía computarizada, resonancia magnética, permiten observar cambios estructurales en tejidos o órganos producto de la infección y la respuesta del hospedero. Estos cambios toman tiempo y antes de que se puedan observar ocurren alteraciones a nivel molecular en el lugar de la infección.

Con el objetivo de observar de forma temprana focos de infección a través de las imágenes moleculares se ha utilizado diferentes metodologías, como el Galio 67, los leucocitos radiomarcados, los antibióticos radiomarcados, el ^{18}F -FDG y más recientemente el ^{18}F -FDS, estas moléculas pueden ser captadas directamente por las células, tejidos, órganos o bacterias localizadas en el lugar donde está ocurriendo la inflamación e infección a continuación de describe con mayor detalle cada una de las metodologías mencionadas anteriormente.

8.1.2 Galio 67

El denominado Citrato de Galio 67, uno de los primeros en ser usado a partir de la década de los años 70, es un derivado del elemento químico Galio situado en el grupo 13 de la tabla periódica y tiene como número atómico el 31. En medicina nuclear se utiliza el isótopo Galio 67 que actúa como radiotrazador. Se obtiene en el ciclotrón, mediante el bombardeo de partículas cargadas del isótopo no radiactivo de Zinc (Zn^{68}) enriquecido. Posteriormente se hace reaccionar con ácido cítrico para formar la sal de Citrato de Ga 67 y obtener así el radiotrazador Galio 67. Su vida media es de 78 horas y decae por captura electrónica, presentado cuatro picos de emisión de rayos gamma (93, 185, 288 y 394 KeV respectivamente) (83,84).

Entre la década de 1970 y 1980s se usó para diagnosticar infecciones en tejidos blandos y músculo esqueléticos junto con la gammagrafía ósea, su estudio combinado se interpretaba como positivo o negativo para infección basándose en los patrones específicos de captación de los dos radiofármacos, jugó un papel importante durante la epidemia de VIH/SIDA por la capacidad para detectar inflamación e infección en estos pacientes inmunocomprometidos con pocos o ningún leucocitos, permitió analizar patrones de captación pulmonar y predecir si tenía neumonía por *Pneumocystis*, hongo microscópico que infecta los pulmones y causa pneumocystosis en personas inmunosuprimidas (85).

Este radiotrazador se administra por vía intravenosa se distribuye por todo el cuerpo donde aproximadamente el 90% se encuentra en plasma donde se une a las proteínas sanguíneas que transportan el hierro como la transferrina y lactoferrina. Durante la formación de focos inflamatorios se produce un aumento de la permeabilidad vascular con la acumulación de Ga^{67}

unido a transferrina, al igual que en exudados inflamatorios secundarios con presencia de lactoferrina unida a Ga^{67} , al igual se ha observado acumulación de Ga^{67} en bacterias y leucocitos presumiblemente por mecanismo de captación directa por difusión facilitada a través de los sideróforos (86).

En algunos casos para la adquisición y exploración de imágenes cuando se sospecha de inflamación aguda intestinal, es interesante realizar una gammagrafía precoz, sobre las 24 horas post inyección, dado que transcurrido ese tiempo el colón es la principal vía excretora y posteriormente a las 48-72 horas aproximadamente el 75 % de las dosis permanece en el cuerpo, distribuida en tejidos blandos, hígado, huesos y medula ósea, se pueden observar algunas captaciones en tejido sano como el sistema lacrimal y salivar nasofaríngeo y mamas que generalmente son débiles, pero pueden ser intensas durante el embarazo y la lactancia. Las primeras imágenes suelen obtenerse entre las 48 y 72 horas posterior a su administración. En algunos casos es necesario repetir la prueba pasadas las 92 horas de inyección, para realizar una interpretación más fina del abdomen, cuando la actividad fisiológica renal e intestinal genera dudas sobre el resultado de la prueba (87).

Su uso fue decayendo a través del tiempo debido al uso de nuevas modalidades de imágenes, junto con algunas desventajas como su baja especificidad para infecciones, tumor, traumas o inflamación aséptica, además del largo intervalo de tiempo entre la administración del Ga^{67} y la obtención de imágenes puede tomar entre 24 hasta 72 horas, observando imágenes con baja resolución, su papel es muy limitado y se utiliza para evaluar inflamación pulmonar, diferenciar necrosis tubular aguda de nefritis intersticial en pacientes con insuficiencia renal aguda, como alternativa cuando la ^{18}F -FDG no está disponible. Razón por la cual algunos investigadores se motivaron en continuar con la búsqueda de nuevas moléculas que sean más específicas, como los leucocitos marcados que se describen a continuación.

8.1.3 Leucocitos radiomarcados

En cuanto a los leucocitos, la utilización documentada de células sanguíneas marcadas da inicio en 1991 con la comparación de las técnicas de marcación de leucocitos en sangre completa y capa leucocitaria, utilizando el Tecnecio-99m (^{99m}Tc) y Dicloruro de estaño ($SnCl_2$) y Tc^{99m} -

Difloururo de estaño (SnF_2) coloidales en sangre fresca de donadores y pacientes con leucocitosis, estudio que demostró que se obtiene un mayor porcentaje de marcación utilizando $\text{Tc}^{99\text{m}}\text{-SnCl}_2$ ya que su pureza radioquímica es mayor (88).

En el año 1992, se evaluó la marcación de plaquetas utilizando cuatro radiotrazadores diferentes a base de $^{99\text{m}}\text{Tc}$, para emplearlos en el diagnóstico de trombosis: Glucoheptonato de calcio, Pirofosfato de sodio, Citrato de sodio y Sal trisódica cálcica de ácido dietilenotriaminopentacético, midiendo los parámetros de biodistribución y eficacia de marcación. El estudio concluyó que los cuatro radiofármacos, el glucoheptonato presenta mayor porcentaje de marcación y biodistribución (89).

Posteriormente, en 1995, se realizó el marcaje radioisotópico de leucocitos con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Hexametilpropilenaminoxima y $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -glucoheptonato con el fin de evaluar con cuál de los dos radiofármacos se obtenía mayor porcentaje de marcación, alta viabilidad y funcionalidad de los leucocitos. El estudio concluyó que la eficacia de marcación, la viabilidad y la recuperación leucocitaria fue mayor con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Hexametilpropilenaminoxima. Mas tarde, en 1996, otro estudio evaluó la estabilización de hexametazima marcada con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ con cloruro de cobalto hexahidratado, para la marcación de leucocitos. El estudio concluyó que al agregar 100ug/ml de cloruro de cobalto hexahidratado a la hexametazima marcada con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ se prolonga la estabilidad del fármaco, no se afecta el porcentaje de marcación ni la morfología de los leucocitos hexametil propilen amino oxima (HMPAO) (90).

En la actualidad el radiomarcaje de los leucocitos requiere de personal capacitado y entrenado, esta metodología puede tomar hasta 3 horas para la preparación de los leucocitos. El procedimiento inicia con la separación de los leucocitos del resto de componentes sanguíneos, después los leucocitos se aíslan y se incuban con el radiomarcaje, con el cual la oxina hidroxiquinolína radiomarcada con cloruro de Indio oxina (In^{111}) forman un complejo lipofílico que traspasa la membrana del leucocito llevando consigo al In^{111} y liberándolo dentro de esta célula, el cual se une a proteínas intracelulares, Toda la técnica se debe realizar bajo condiciones estériles y de forma cuidadosa para evitar la activación de los leucocitos que posteriormente se reinfunden en el

paciente. Se requiere un recuento mínimo de 2000 leucocitos / μ l para obtener imágenes satisfactorias(91) .

Las imágenes que se obtienen se caracterizan por tener una intensa actividad pulmonar que rápidamente desaparece y alcanza niveles de fondo aproximadamente en 4 horas, este fenómeno puede suceder por la activación de leucocitos durante el marcaje lo cual impide su paso a través de la base vascular pulmonar y prologa su residencia en los pulmones. Cuando se usa In^{111} es estable y su biodistribución normal se limita al hígado, el bazo y la médula ósea con un periodo de vida media de 67 horas, facilita la obtención de imágenes por un largo periodo de tiempo. Las desventajas de esta metodología es la energía de fotones subóptimas con imágenes de baja resolución, con intervalos entre 18 a 30 horas entre la inyección de leucocitos marcados y la obtención de imágenes (92).

Por otro lado, la biodistribución normal leucocitos marcados con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ es más variable que con In^{111} por que el Tecnecio eluye (extraer mediante un líquido apropiado una sustancia del medio sólido que la ha absorbido) de los leucocitos, además está en el sistema reticuloendotelial con actividad en el tracto urinario, intestino grueso dentro de las 4 horas posteriores a la reinfusión y ocasionalmente la vesícula biliar, el tiempo para la obtención de imágenes varía con la indicación, por lo general está en pocas horas después de la inyección. Cuando se requieren imágenes óseas o de médula ósea es necesario un intervalo entre 48 a 72 horas para obtenerlas.

Las ventajas de esta técnica leucocitos marcados con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ incluye un fotón óptimo de energía para imágenes de gama cámara, un alto flujo de fotones y la capacidad de detectar anomalías unas pocas horas después de la reinfusión de leucocitos marcados. desventajas la actividad en el tracto urinario y el intestino y la corta vida media del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ de 24 horas juega un papel importante si se retrasa la obtención de imágenes. El fundamento de esta metodología se basa en lugar donde ocurre la infección los leucocitos eventualmente mueren y se acumulan junto con el tejido destruido formado un absceso por la respuesta inflamatoria; usualmente contiene bacterias patógenas y si no es tratado puede poner en peligro la vida del paciente o llevar a largos periodos de enfermedad y hospitalización. La localización de un absceso es a menudo un problema clínico de difícil solución. Como un absceso es por definición acumulación de leucocitos, estas células marcadas con un

radionúclido gamma emisor pueda ser detectado externamente y producir una imagen del lugar de la infección, siempre y cuando durante el proceso de marcación no se afecten las funciones celulares normales de los leucocitos. Por todos los inconvenientes presentados con la marcación de leucocitos *in vitro* se realizó un gran esfuerzo en desarrollar nuevos métodos de marcaje *in vivo* con el marcaje de anticuerpos antigranulocitos o fragmentos de anticuerpo, siendo uno de los primeros en explorar la inmonoglobulina G1 monoclonal murina ^{99m}Tc besilesomab se une al antígeno 95 de reacción cruzada e inespecífica con los neutrófilos, una gran desventaja de este método es la alta incidencia de anticuerpo de repuesta dependiente de dosis humana antimurina (HAMA), la cual varía entre 4. 5 % en paciente que reciben una dosis única de 125mg de anticuerpo a más del 30% en pacientes que reciben inyecciones repetidas, lo que hace que su uso no sea práctico porqué el paciente tiene que ser preseleccionados antes de administrar el anticuerpo, por lo que no se recomienda inyectar con más de 50 mg de anticuerpo y no repetir su administración en poco tiempo (93).

8.1.4 Antibióticos radiomarcados

Con el objetivo de continuar con la búsqueda de moléculas radiomarcadas específicas para infecciones, se realizó el marcaje de algunos antibióticos, basándose en que estos tienen un blanco molecular específico dentro del metabolismo de las bacterias y podrían detectar de manera exacta el lugar de la infección, una de las investigaciones más extensas fue realizada con la ciprofloxacina marcada con ^{99m}Tc observando en sus primeros ensayos una alta sensibilidad y especificidad, sin embargo, estudios posteriores evidenciaron su baja especificidad en focos de infección. Lo cual generó dudas y gran parte del entusiasmo original por los antibióticos radiomarcados disminuyó (94).

Los antibióticos radiomarcados se remontan a la década de los 70's cuando un grupo de investigadores sintetizaron la tetraciclina radiomarcada con iodo-I- 131 (TET-131I) (*Chaucey DM, 1976*). Alcanzó una pureza máxima de 85% y una estabilidad del marcaje hasta de 72 horas almacenada a cuatro grados Celsius. Estudios experimentales en ratas con abscesos por (*Staphylococcus aureus*) fueron inoculados y se comparó al Ga^{67} y I- 131 para detectar abscesos, como resultado se observó que la concentración de Ga^{67} fue significativamente mayor tanto a las 24 como a las 72 horas de administrados los radiofármacos. Su aplicación clínica en el estudio de

procesos inflamatorios no tuvo aceptación y fue más útil en estudios de tumores, dado que en la práctica médica se observaron que las imágenes obtenidas con dicho radiotrazadores evidencian en muchos casos una falta de selectividad en la localización de la marca radiactiva, que con lleva dificultades en la realización de un diagnóstico adecuado. Entre las posibles causas, la falta de selectividad puede contarse mecanismos de localización inespecíficos, así como malas marcaciones del fármaco (95).

También se ha radiomarcado la biotina conocida como vitamina B7 o H, la cual es usada como un factor de crecimiento para ciertas bacterias, se radiomarcó con In^{111} sola y en combinación con la estreptavidina. Se usó para la obtención de imágenes infecciosas en el musculo esquelético en la columna con excelentes resultados, este radiofármaco nunca se comercializó (96).

8.1.5 Péptidos antimicrobianos

Los péptidos antimicrobianos (AMP) forman parte importante de la defensas naturales de los organismos vivos, en su mayoría son pequeños catiónicos alifáticos (hidrofílicos e hidrofóbicos) atraen patógenos por diferentes mecanismos exhibiendo un gran espectro contra bacterias, hongos y virus, se transportan por el torrente sanguíneo hasta el sitio de infección entrando en contacto estrecho con los microorganismos, involucrados en el proceso de apoptosis y modulación de la respuesta inmune, eliminan al microbio sin causar daños en las células del hospedero. Un ejemplo son los fragmentos sintéticos de Ubiquitina (UBI) radiomarcada a un péptido antimicrobiano murino radiomarcado con ^{99m}Tc UBI (97) presente en una fracción citosólica de los macrófagos; se observó una buena sensibilidad y especificidad para una gran variedad de infecciones, también para monitorización del tratamiento. Hasta el momento no se han realizado ensayos clínicos a gran escala con UBI.29-41 o con algún otro AMPs (97).

8.1.6 ^{18}F -Fluorodexosiglucosa

A mediados del siglo 20 proliferó el uso clínico de la PET, razón por la cual los investigadores se centraron en identificar radiotrazadores emisores de positrones para el diagnóstico clínico, de tumores, linfomas, infecciones y otros, con las grandes ventajas en su uso como la obtención de imágenes tridimensionales de alta resolución de todo el cuerpo, que permiten la localización exacta

del radiotrazador y por lo tanto el lugar de la infección. El radiotrazador más extensamente utilizado por excelencia desde el año 1976 ha sido la ^{18}F -FDG, análogo fluorado de la glucosa, radiotrazador de imágenes más ampliamente utilizado a nivel clínico. La Sociedad de Medicina Nuclear e Imagen Molecular (SNMMI) y la Asociación de Medicina Nuclear Europea (EANM, siglas en inglés) recomiendan su uso para el diagnóstico y evaluación de tumores, linfomas, osteomielitis, metástasis, vasculitis (74).

La captación celular de ^{18}F -FDG al interior de la célula se realiza mediante transportadores de glucosa localizados en la membrana celular conocidos como GLUT1-GLUT9, estos permiten internalizarla en la célula, para que sea metabolizada por la vía glucolítica mediante la enzima glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa pero este quedando atrapado y acumulado dentro de la célula debido a su unión con el Flúor 18, la enzima no lo reconoce, sin difundirse de nuevo al espacio extracelular, principio que es utilizado en la práctica médica para identificar, localizar y cuantificar la absorción de glucosa radiomarcada al interior de tejidos u órganos mediante los valores SUV (98).

Puede observarse una biodistribución normal de ^{18}F -FDG cerebro, miocardio, tracto urinario y algunas captaciones de bajo grado en hígado, bazo y médula ósea. Por tratarse de una molécula pequeña ingresa rápidamente las áreas refundidas por lo que permite realizar imágenes dentro de 1 hora después de su administración endovenosa. La captación esquelética, generalmente se normaliza entre 3 y 4 meses, pueden ocurrir captaciones en lugares con inflamación que generalmente se normalizan con el tiempo, posteriores al trauma, cirugía o lugares con cambios óseos o degenerativos que muestra una captación levemente aumentada. El ^{18}F -FDG también es útil para el diagnóstico de enfermedades cardiovasculares, incluida la endocarditis infecciosa, así como de dispositivos electrónicos implante cardíaco prótesis vascular infecciones de injerto (66).

En general todos los radiotrazadores deben ser lo suficientemente estable tanto *in vitro* como *in vivo*, no ser tóxicos en las concentraciones que se van a utilizar y detectar el objetivo que se allá establecido de acuerdo con los ensayos experimentales realizados previamente, características que cumple el radiotrazador PET ^{18}F -FDS, el cual permite localizar sitios con infecciones originadas

por *Enterobacterales* sin que exista ningún riesgo para la salud humana. Estas han sido definidas por diferentes investigadores y se encuentran descritas en la (Tabla 3).

Tabla 3. Características de un radiotrazador para infecciones bacterianas, Tomado de: (80,99)

CARACTERÍSTICAS	DESCRIPCIÓN
PENETRACIÓN DEL TEJIDO	Alta penetración en tejidos con reducida vascularidad y condiciones heterogéneas de infección
SENSIBILIDAD	Alta señal del blanco molecular fondo señal ratio, bajo límite de detección ($<10^5$ Unidades Formadoras de Colonia UFC)
ESPECIFICIDAD	Acumulación tanto en bacterias susceptibles como resistentes en diferentes fases de crecimiento. Capaz de diferenciar entre la infección bacteriana e inflamación estéril.
ESPECÍFICO PARA BACTERIAS	Acumulación selectiva para patógenos. Capaz de diferenciar entre infecciones por Gram positivos- Gram negativos e inflamación estéril.
CUANTITATIVO	Señal sea proporcional a la carga bacteriana
ESTABILIDAD	Estabilidad química en sangre. Baja degradación del radiotrazador en el hospedero. mientras se distribuye por todo el cuerpo
SEGURO FABRICACIÓN	Dosis de radiación aceptable, rápida inyección y baja toxicidad Buenas prácticas de fabricación (BPM) producción en línea de radioisótopos disponibilidad para PET/SPECT a costos razonables.

8.2 Objetivo

- Estandarizar la síntesis del radiotrazador ^{18}F -FDS de buena calidad para asegurar su administración en pacientes.

8.3 Materiales y Métodos

Para cumplir con los objetivos de este capítulo se llevaron a cabo las siguientes actividades:

1. Verificar y determinar las características radioquímicas de la ^{18}F -FDG disponible.
2. Realizar los primeros experimentos para sintetizar el FDS sin exposición a la radiación.
3. Realizar la síntesis de ^{18}F -FDS a partir de ^{18}F -FDG.
4. Realizar los controles de calidad radioquímica y determinar la pureza de ^{18}F -FDS.
5. Realizar las pruebas microbiológicas de ^{18}F -FDS sintetizada, para garantizar su esterilidad.
6. Describir el protocolo para realizar la síntesis radioquímica de ^{18}F -FDS a partir de ^{18}F -FDG

8.3.1 Estandarizar la síntesis del radiotrazador ^{18}F -FDS

Todos los procesos de síntesis se realizaron en la Radiofarmacia del HIC por personal capacitado con el equipo de Radioprotección adecuado y materiales blindados necesarios para su manipulación

1. Al vial que contiene la solución acuosa de ^{18}F -FDG se le agrega borohidruro de sodio (10 mg).
2. La mezcla se calienta a 55 °C durante 10 minutos mientras se agita en un vial sellado en forma de V.
3. Enfriar a temperatura ambiente.
4. Agregar lentamente 20 µl de ácido acético glacial a la mezcla enfriada.
5. Transferir la solución completa a través de un cartucho Chromabond V (el cartucho se lava primero con 5 ml de etanol, seguido de 10 ml de agua estéril) unido a un filtro para de esterilización de 0,22 µm.
6. Empujar los residuos dentro del cartucho + filtro con 5mL de solución salina al 0.9%.

7. Pasar la solución del cartucho + filtro a un vial estéril libre de pirógenos previamente cargado con 4 ml de solución salina al 3% para producir al final [^{18}F]FDS estéril en una concentración salina final al 0.9%.

8.3.2 Control de calidad radioquímica:

Realizar Cromatografía de Capa Fina (TLC)

1. Preparación de Solución de corrida 40ml de acetonitrilo + 10 ml de agua destilada.
2. Preparación de Solución de revelado con 0.5g de Permanganato de Potasio en una solución al 1 N de Hidróxido de Sodio.
3. Realizar registro de soluciones preparadas y rotular.
4. Realizar el paso a paso según la lista de verificación del paso a paso.
5. Determinar el % Pureza radioactiva:
$$\frac{\text{Rf1}}{\text{Rf0}+\text{Rf1}} \times 100$$

8.3.3 Control de calidad microbiológico

Se realizaron las pruebas microbiológicas tomando 1 ml de la solución inyectable de ^{18}F -FDS para adicionar al caldo de cultivo tioglicolato, se tomaron 2 tubos de medio líquido para inocular por muestra, cada medio con 0.1 ml de la muestra de ^{18}F -FDS e incubar aeróbicamente a 37°C durante 14 días. La primera lectura se realizó a las 12 horas, para observar turbidez o algún crecimiento en el medio, luego una segunda lectura a las 24 horas y 72 horas, hasta que cumpla 14 días de incubación. En caso de observar alguna turbidez la muestra se cultiva en agar sangre para aislar la bacteria e identificarla. Después que transcurra las 2 semanas de incubación y la muestra no tenga ningún crecimiento, el resultado es negativo para microorganismos y la muestra cumple con los requisitos de esterilidad.

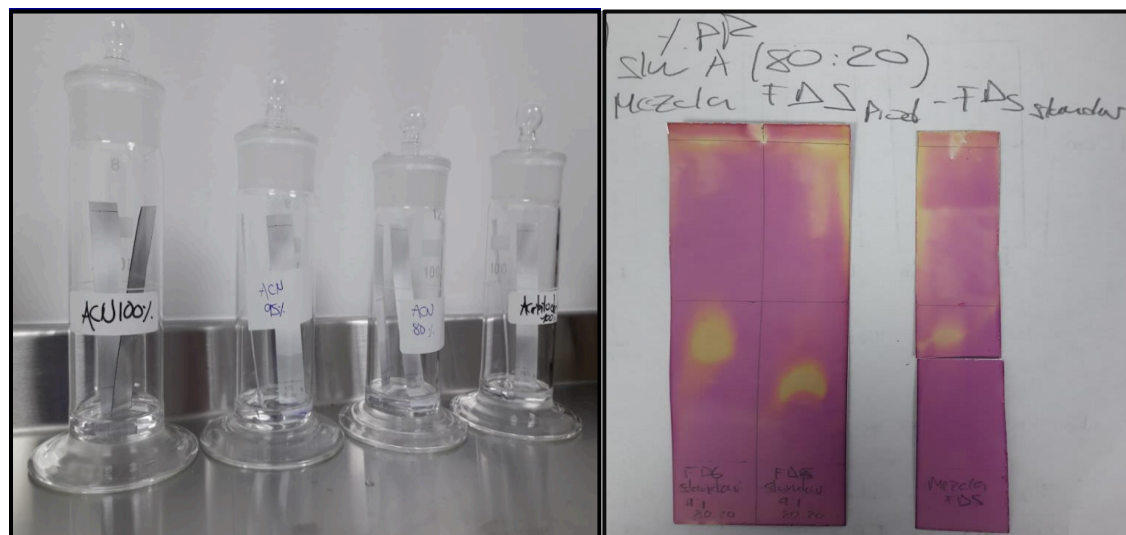
8.4 Resultados

Durante el proceso de síntesis para obtener ^{18}F -FDS, algunos autores han realizado el control radioquímica mediante Cromatografía de capa fina conocida por sus siglas en inglés como (TLC) utilizando esta técnica cromatográfica se determina el R_f o distancia de la muestra desde el origen/ distancia del eluyente desde el origen, la cual es específica para cada que se analice en este caso la ^{18}F -FDS. A continuación, algunos autores han descrito los R_f obtenidos en sus experimentos descritos en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultado por cromatografía de capa fina de la síntesis ^{18}F -FDS. Tomado y adaptado de (69,100)

$R_f^{18}\text{F-FDG}$	$R_f^{18}\text{F-FDS}$	Fase móvil	Referencias
55 glucosa	10 sorbitol		O. Hadzija et al., 1994
0.45	-----	95:5	S Yu, 2006
0.34	0.55	80:20	Zi-Bo Li et al., 2008
0.58	0.40	80:20	Shaobo Yao et al., 2016
0.46	0.20	95:5	

Figure 9. Resultados por cromatografía de capa fina para ^{18}F -FDS.



Identifico la fase móvil que permitió distinguir la ^{18}F -FDG de la ^{18}F -FDS, la fase móvil que permitió diferencias esos radiotrazadores fue Acetonitrilo 80:20

Calcular % Pureza Radiactiva

TLC 80:20

tiempo corrida cromatografía: 13 minutos Mezcla FDS producto síntesis + FDS estándar Rf1:

7,32 μ Ci- Fondo 6,62= 0.7 μ Ci

Rf0: 6,66 μ Ci – Fondo 6,62= 0.04 μ Ci

% Pureza radioactiva=100% - % Impurezas

% impurezas= (Rf0/(Rf0+Rf1))x 100

% Pureza radioactiva= 0,04/ 0,74=5,40 % impurezas

% Pureza radioactiva= 94, 59%

Las características radioquímicas de la ^{18}F -FDG que está disponible a partir de dos proveedores y de acuerdo con estas características se estandarizaron las condiciones de síntesis.

Síntesis y formulación en un solo paso de ^{18}F -FDS:

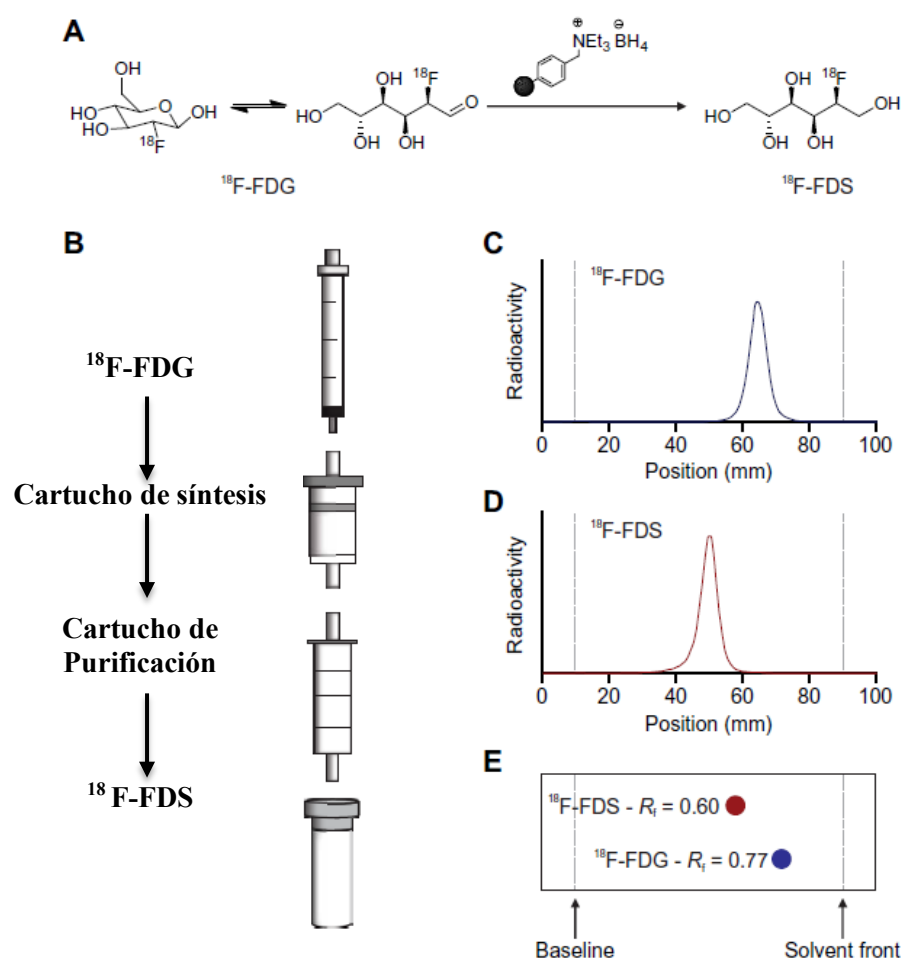
El ^{18}F -FDS se puede sintetizar rápidamente a partir de ^{18}F -FDG disponible comercialmente, a continuación, se describe el paso a paso para realizar esta síntesis.

Procedimiento:

1. Al vial que contiene la solución acuosa de $[^{18}\text{F}]$ FDG se le agrega borohidruro de sodio (10 mg).
2. La mezcla se calienta a 55 °C durante 10 minutos mientras se agita en un vial sellado en forma de
3. Enfriar a temperatura ambiente.
4. Se agregan lentamente 1 ml de ácido acético glacial a la mezcla enfriada.
5. Se transfiere la solución completa a través de un cartucho Chromabond V (el cartucho se lava primero con 5 ml de etanol 200 ul, seguido de 10 ml de agua estéril) unido a un filtro para de esterilización de 0,22 μm .
6. Se empujan los residuos dentro del cartucho + filtro con 5mL de solución salina al 0.9%.

7. Pasar la solución del cartucho + filtro a un vial estéril libre de pirógenos previamente cargado con 4 ml de solución salina al 3% para producir al final [^{18}F]FDS estéril en una concentración salina final al 0.9%. (pH permitido: 4.5 a 8.5).

Figura 10. Sistema de síntesis de ^{18}F -FDS a partir de ^{18}F -FDG. Tomado de (4)



Se optimizó el proceso para la síntesis de ^{18}F -FDS en un solo paso que permite sintetizar ^{18}F -FDS listo para usar a partir de ^{18}F -FDG disponible en menos de 10 minutos a temperatura ambiente. Al comenzar con 857 ± 81 MBq de ^{18}F -FDG, este kit basado en enfoque produjo 524 ± 68 MBq de ^{18}F -FDS con $> 90\%$ radioquímica pureza, que sería adecuada para una dosis típica de ^{18}F -FDS requerida para humano adulto (típicamente 370 MBq).

Se utilizó el sistema de cartucho en fase sólida para sintetizar ^{18}F -FDS, en un proceso de reducción hacia ^{18}F -FDG (A), tal como aparece en la (Figura 10), a temperatura ambiente utilizando un

soporte sólido fuente de borohidruro (B) Representación esquemática de kits basados en síntesis y formulación de ^{18}F -FDS, que se puede lograr diluyendo una solución de ^{18}F -FDG a través de un cartucho de síntesis en fase sólida seguido de una purificación y cartucho de formulación (Chromabond Set V). Con una pureza radioquímica $> 90\%$ que fue evaluada por radio-TLC, lo que muestra que ^{18}F -FDG (C) y ^{18}F -FDS (D), tienen diferentes tiempos de retención y que estos son idénticos a los de frío tal como se observa en FDG y FDS (E).

Pasos	Hora	Reactivo	Actividad radiactiva mCi	pH	Volumen ml
1	Inicio:	Tomar vial de ^{18}F -FDG		pH del certificado de análisis: no enviaron el certificado	
2		Mezclar ^{18}F -FDG+ 10mg de Borihidruro de Sodio: () mg	-----		
3		Incubar la mezcla de ^{18}F -FDG + 10mg de Borihidruro de Sodio a 55°C por 10 minutos			
4		Activar cartucho Chromabond V con 5 ml de Etanol y dos lavados con agua estéril.			
5		Dejar enfriar la mezcla entre 3-5 minutos	----		
6		Adicionar a la mezcla lentamente 20 ul Ácido Acético	-----		
7		Ajustar pH con 20mg de Bicarbonato de Sodio 20mg			
8		Transferir Solución a través de Chromabond V previamente activado			
9		Tomar 5 ml de solución salina al 0.9 % y pasarla de nuevo por el cartucho Chromabond V para recolectar toda la solución en un tubo estéril			
10		Recolectar toda la solución filtrada en un tubo estéril de 10ml que contiene 4ml de Solución salina estéril al 3%	-----		
11	Hora Final:	Producir finalmente una solución estéril de ^{18}F- FDS en una concentración salina final al 0.9%.	10 mCi	6-7	6-10 ml

Tabla 5. Protocolo para realizar la síntesis radioquímica de ^{18}F -FDS a partir de ^{18}F -FDG

8.5 Conclusiones

La síntesis del ^{18}F -FDS obtenida en la presente investigación puede considerarse como un adelanto significativo como un radiotrazador en infecciones por *Enterobacterales* y ser utilizado en el campo de la medicina nuclear en Colombia.

Con la puesta en práctica de este protocolo se sintetizó la ^{18}F -FDS de manera exitosa, con rendimientos químicos y actividades específicas altas y tiempos de reacción cortos.

Una contribución importante está dada en la posibilidad de difundir los resultados de investigación a organizaciones clínicas y hospitalarias que tengan el equipo PET relativamente lejanos del sitio de producción. Con la ayuda de esta metodología de síntesis se puede preparar de forma rutinaria ^{18}F -FDS, en condiciones de: i) asepsia, ii) seguridad radiológica, iii) calidad y iv) costos asequibles para pacientes e instituciones interesadas en este radiofármaco. Con base a la presente experiencia de investigación se aproximan las posibilidades de aplicar de manera exitosa en la medicina nuclear este radiotrazador PET para obtener imágenes de diagnóstico.

8.6 Productos del capítulo I

Durante el desarrollo de este capítulo se obtuvieron una serie de experiencia novedosas durante la síntesis de ^{18}F -FDS entre las cuales pueden citarse como referencias metódicas y técnicas de investigación, las siguientes:

1. Se realizó el entrenamiento en protección radiológica para el manejo de material radioactivo en la Fundación Cardiovascular de Colombia- Hospital Internacional de Colombia.
2. Se capacito y formo el personal de la radiofarmacia junto con la estudiante doctoral en la síntesis de un nuevo radiotrazador PET con la asesoría internacional del Hospital Johns Hopkins.
3. Se estandarizo el protocolo para sintetizar ^{18}F -FDS a partir de FDG sin importar el proveedor nacional.
4. Se implemento y estandarizó el control de calidad radioquímica mediante un método sencillo como la cromatografía de capa fina que puede estar disponible fácilmente en las radiofarmacia sin generar altos costos o necesitar de equipos sofisticados.
5. Se implemento el control de calidad microbiológico de la solución inyectable de ^{18}F -FDS, para garantizar la esterilidad con la colaboración del laboratorio de microbiología de HIC.
6. Se obtuvo una ^{18}F -FDS de alta calidad radioquímica en la radiofarmacia de alta complejidad, ubicada en la Unidad de Medicina Nuclear del Hospital Internacional de Colombia.

9. CAPÍTULO II.

Evaluar la utilidad del estudio por tomografía por emisión de positrones con ^{18}F -FDS en el diagnóstico y seguimiento de infecciones originadas por *Enterobacteriales*.

IMAGING

Imaging *Enterobacteriales* infections in patients using pathogen-specific positron emission tomography

Alvaro A. Ordonez^{1,2,3†}, Luz M. Wintaco^{4,5†}, Filipa Mota^{1,2,3}, Andres F. Restrepo⁶, Camilo A. Ruiz-Bedoya^{1,2,3}, Carlos F. Reyes⁷, Luis G. Uribe⁸, Sudhanshu Abhishek^{1,2,3}, Franco R. D'Alessio⁹, Daniel P. Holt¹⁰, Robert F. Dannals¹⁰, Steven P. Rowe¹⁰, Victor R. Castillo¹¹, Martin G. Pomper¹⁰, Ulises Granados^{4,12*}, Sanjay K. Jain^{1,2,3,10*}

Copyright © 2021
The Authors, some
rights reserved;
exclusive licensee
American Association
for the Advancement
of Science. No claim
to original U.S.
Government Works

Enterobacteriales represent the largest group of bacterial pathogens in humans and are responsible for severe, deep-seated infections, often resulting in sepsis or death. They are also a prominent cause of multidrug-resistant (MDR) infections, and some species are recognized as biothreat pathogens. Tools for noninvasive, whole-body analysis that can localize a pathogen with specificity are needed, but no such technology currently exists. We previously demonstrated that positron emission tomography (PET) with 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-sorbitol (¹⁸F-FDS) can selectively detect *Enterobacteriales* infections in murine models. Here, we demonstrate that uptake of ¹⁸F-FDS by bacteria occurs via a metabolically conserved sorbitol-specific pathway with rapid in vitro ¹⁸F-FDS uptake noted in clinical strains, including MDR isolates. Whole-body ¹⁸F-FDS PET/computerized tomography (CT) in 26 prospectively enrolled patients with either microbiologically confirmed *Enterobacteriales* infection or other pathologies demonstrated that ¹⁸F-FDS PET/CT was safe, could rapidly detect and localize *Enterobacteriales* infections due to drug-susceptible or MDR strains, and differentiated them from sterile inflammation or cancerous lesions. Repeat imaging in the same patients monitored antibiotic efficacy with decreases in PET signal correlating with clinical improvement. To facilitate the use of ¹⁸F-FDS, we developed a self-contained, solid-phase cartridge to rapidly (<10 min) formulate ready-to-use ¹⁸F-FDS from commercially available 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose (¹⁸F-FDG) at room temperature. In a hamster model, ¹⁸F-FDS PET/CT also differentiated severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pneumonia from secondary *Klebsiella pneumoniae* pneumonia—a leading cause of complications in hospitalized patients with COVID-19. These data support ¹⁸F-FDS as an innovative and readily available, pathogen-specific PET technology with clinical applications.

INTRODUCTION

Enterobacteriales are rod-shaped Gram-negative bacteria inhabiting the gastrointestinal tract, representing the largest group of bacterial pathogens in humans (1). They include *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Serratia* spp., and *Yersinia* spp. (2), which produce a range of human disease including implant-associated infections, meningitis, brain abscesses, and nosocomial pneumonias that can result in sepsis or death. Multidrug-resistant (MDR) strains of *Enterobacteriales* such as extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing and

carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) are designated as urgent threats to human health by the U.S. Centers for Disease Control and Prevention (3) and have become widespread globally. MDR infections due to *Enterobacteriales* are associated with late diagnosis, a lower rate of appropriate empirical antibiotic treatment, and higher mortality (4). *Enterobacteriales*, especially *K. pneumoniae*, are also a leading cause of secondary pneumonias in hospitalized patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) (5). Last, a prominent *Enterobacteriales*, *Yersinia pestis* (causes plague), is designated as a biothreat pathogen and was responsible for several past pandemics (1).

Divergent evolution has created highly differentiated metabolic pathways between mammalian (eukaryotic) and bacterial (prokaryotic) cells (6), which can be exploited to develop bacteria-specific imaging approaches. 2-Deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-sorbitol (¹⁸F-FDS) was identified by systematically screening random radiolabeled, small molecules for selective metabolism by bacteria (7). We have previously demonstrated that ¹⁸F-FDS selectively accumulates in *Enterobacteriales* but not in healthy mammalian or cancer cells and that ¹⁸F-FDS positron emission tomography (PET) can specifically detect *Enterobacteriales* infections in murine models (8). In this study, we prospectively assessed ¹⁸F-FDS PET and computerized tomography (CT) in patients with microbiologically confirmed *Enterobacteriales* infections before and after antibiotic treatment and compared them to control patients with other pathologies. We also developed a self-contained, solid-phase cartridge to rapidly synthesize ¹⁸F-FDS and used it to evaluate *K. pneumoniae* coinfection in a hamster model of SARS-CoV-2.

¹Center for Infection and Inflammation Imaging Research, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21287, USA. ²Center for Tuberculosis Research, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21287, USA. ³Department of Pediatrics, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21287, USA. ⁴Department of Nuclear Medicine, Hospital Internacional de Colombia, Fundación Cardiovascular de Colombia, Piedecuesta 681017, Colombia. ⁵Biomedical and Biological Sciences Graduate Program, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario, Bogotá 111711, Colombia. ⁶Department of Internal Medicine, Hospital Internacional de Colombia, Fundación Cardiovascular de Colombia, Piedecuesta 681017, Colombia. ⁷Department of Critical Care, Hospital Internacional de Colombia, Fundación Cardiovascular de Colombia, Piedecuesta 681017, Colombia. ⁸Department of Infectious Diseases, Hospital Internacional de Colombia, Fundación Cardiovascular de Colombia, Piedecuesta 681017, Colombia. ⁹Pulmonary and Critical Care Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21287, USA. ¹⁰Russell H. Morgan Department of Radiology and Radiological Sciences, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21287, USA. ¹¹Bioengineering Research Group, Fundación Cardiovascular de Colombia, Piedecuesta 681017, Colombia. ¹²Biomedical and Translational Research Group, Fundación Cardiovascular de Colombia, Piedecuesta 681017, Colombia.

*Corresponding author. Email: ulisesgranados@fcv.org (U.G.); sjain5@jhmi.edu (S.K.J.)
†These authors contributed equally to this work.

RESULTS

Mechanism of incorporation of ^{18}F -FDS into bacteria

^{18}F -FDS uptake in *Enterobacterales* occurs via a metabolically conserved pathway mediated by a sorbitol-specific phosphotransferase system (PTS) composed of three subunits: SrlE, SrlA, and SrlB (9). The *srl* operon is induced by sorbitol, and PTS transports sorbitol with low micromolar affinities (10). *E. coli* K-12 *srlA*, *srlB*, and *srlE* knockout strains demonstrated that the sorbitol-specific PTS is essential for bacterial uptake of ^{18}F -FDS but not 2-deoxy-2- ^{18}F fluoro-D-glucose (^{18}F -FDG) (fig. S1). However, no selective transporter for ^{18}F -FDS is present in mammalian cells, and substitution of the hydroxyl group by fluorine at the 2-position abrogates recognition by mammalian cells (11).

 ^{18}F -FDS PET/CT selectively detects *Enterobacterales* infection

In the current study, 26 newly identified patients with either microbiologically confirmed *Enterobacterales* infections ($n = 18$) or control patients with other pathologies ($n = 8$) were prospectively enrolled (Fig. 1 and table S1). For all infections, microbiological confirmation was required from the clinical/biopsy sample obtained from the infection site. Oncologic diagnoses were made via tissue biopsies, and sterile inflammatory pathologies were determined clinically and/or by tissue biopsies. Four patients with *Enterobacterales* infections had coexisting biopsy-proven oncologic disease. The median age was 60.5 years (range, 31 to 91 years), and 38% (10 of 26) were female (table S2). The cohort comprised a diverse group of patients with comorbidities and thus representative of hospitalized patients in a tertiary care setting. On the basis of the kinetics of radiotracer clearance (8, 12), ^{18}F -FDS PET/CT was performed at 1 and 2 hours after an intravenous injection of ^{18}F -FDS. ^{18}F -FDS was rapidly eliminated predominantly via the kidneys with some hepatobiliary excretion and an overall low background PET signal (figs. S2 and S3). Overall, 71 ^{18}F -FDS PET/CT scans were performed in enrolled patients, which were safe, well tolerated, and without adverse effects in all patients.

^{18}F -FDS PET/CT was able to detect and localize infections at multiple body sites (Fig. 2, A and B). ^{18}F -FDS PET also detected an intracranial infection (Fig. 2C) over the inherently low ^{18}F -FDS background in the surrounding unaffected brain tissues (Fig. 2D and figs. S2

and S3). Consistent with previous reports (13, 14), acute infections were associated with a high bacterial burden at the infection sites (fig. S4A), and *Enterobacterales* isolated from the infected patients, including one ESBL-producing strain, demonstrated robust in vitro ^{18}F -FDS uptake (fig. S4B). There was no correlation between the peripheral white blood cell or neutrophil counts and the ^{18}F -FDS PET signal in the infected patients (fig. S5), suggesting that ^{18}F -FDS PET

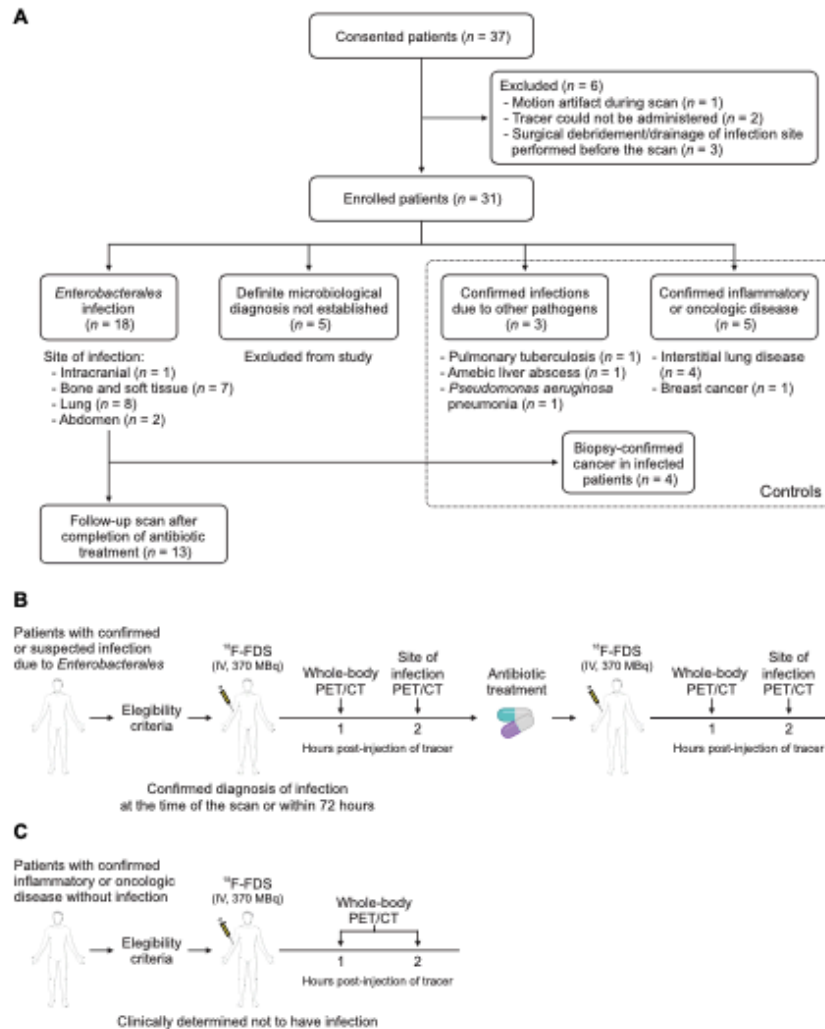
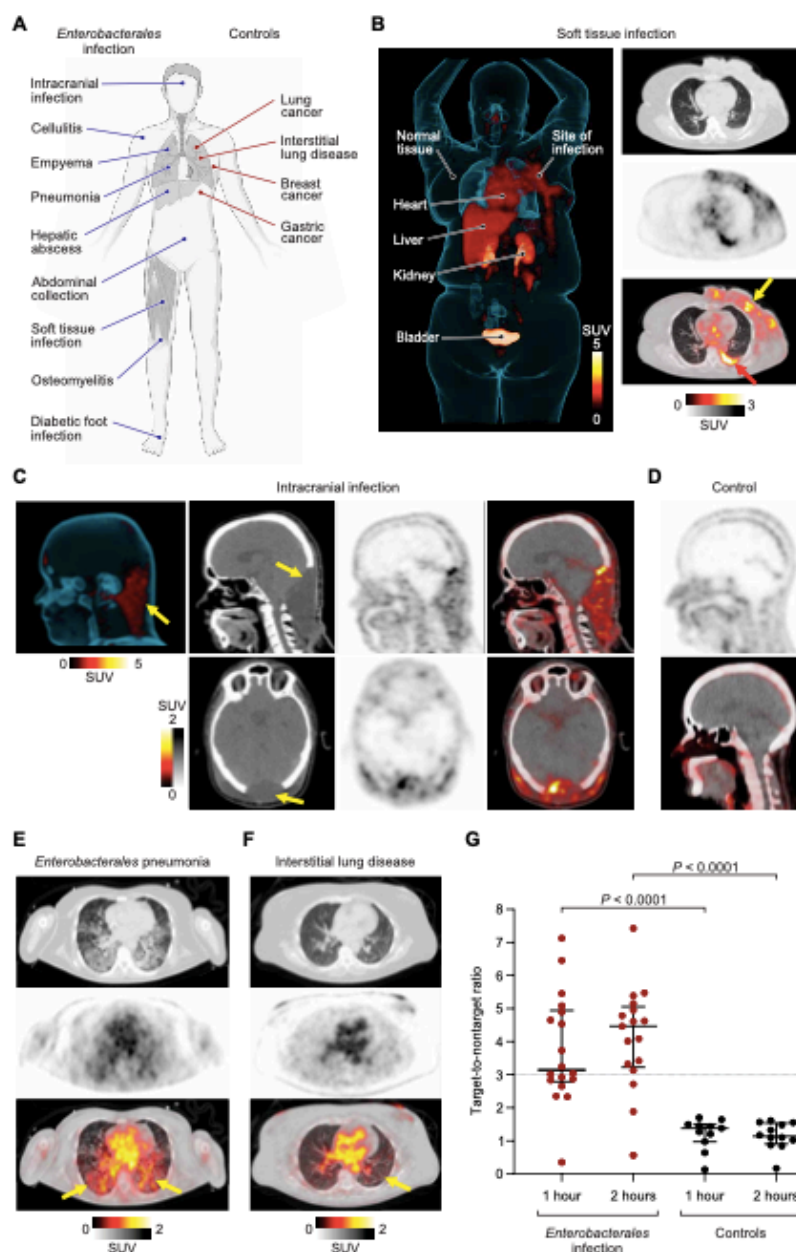


Fig. 1. Clinical study design. (A) Patients with microbiologically confirmed or high suspicion for *Enterobacterales* infection and control patients with other pathologies were prospectively enrolled. For all infections, microbiological confirmation was required from the clinical/biopsy sample obtained from the infection site. Definite microbiological diagnosis was not established in five patients who were excluded from the study. Oncologic diagnosis was made via tissue biopsies, and sterile inflammatory pathologies were determined clinically and/or with tissue biopsies. Four patients with *Enterobacterales* infections had coexisting biopsy-proven oncologic disease. Patients meeting the eligibility criteria underwent ^{18}F -FDS PET/CT at 1 and 2 hours after tracer injection. (B) Patients with microbiologically confirmed or high suspicion for *Enterobacterales* infection were imaged. A subset of patients with microbiologically confirmed *Enterobacterales* infection was imaged again after completion of antibiotic treatment. (C) Patients with confirmed inflammatory or oncologic diseases without infection were also enrolled and served as controls.

Fig. 2. ^{18}F -FDS PET can selectively detect and localize *Enterobacteriales* infection at several body sites. (A) Patients with microbiologically confirmed *Enterobacteriales* infection (blue lines) or control patients with other pathologies (red lines) were prospectively enrolled and underwent PET/CT at 1 and 2 hours after intravenous administration of ^{18}F -FDS. (B) Three-dimensional (3D) maximum intensity projection (MIP), transverse CT (top right), PET (middle right), and overlaid PET/CT (bottom right) from a 67-year-old female with *Klebsiella aerogenes* cellulitis of the left breast. The breast infection site is marked by a yellow arrow, and a microbiologically confirmed pleural effusion is also noted (red arrow). Signal is also noted in the heart (blood pool), liver, kidneys, and the urinary bladder, but no signal is noted in the brain. (C) From left to right, 3D MIP (left), CT, PET, and overlaid PET/CT from a sagittal view (top) and transverse view (bottom), where ^{18}F -FDS PET signal is observed in a 38-year-old male with an intracranial infection due to an MDR bacteria. ESBL-producing *K. pneumoniae* was isolated from the site of infection (yellow arrow) and cerebrospinal fluid. (D) Sagittal ^{18}F -FDS PET (top) and overlaid PET/CT (bottom) of the healthy brain of a control patient with low background signal. (E) Transverse CT (top), PET (middle), and overlaid PET/CT (bottom), where ^{18}F -FDS PET signal is observed in the infected lung areas (yellow arrows) in a 51-year-old female patient with *K. pneumoniae* pneumonia. (F) Transverse CT (top), PET (middle), and overlaid PET/CT (bottom) show lack of ^{18}F -FDS PET signal in the affected lung areas (yellow arrow) of a 54-year-old male with interstitial lung disease (control patient). (G) Target-to-nontarget ratio at 1 and 2 hours after ^{18}F -FDS injection for all 26 patients. Data are represented as median and IQR. Statistical comparisons were performed using a two-tailed Mann-Whitney *U* test. SUV, standardized uptake value.

is not dependent on host inflammatory cells (8). Increased ^{18}F -FDS PET signal was observed at infection sites (Fig. 2E), whereas minimal signal was noted at the sites of oncologic or sterile inflammatory pathologies (Fig. 2F and fig. S2).

To quantify the PET signal, spherical volumes of interest (VOIs) were drawn at the sites of pathology and unaffected sites of the same tissue to calculate the target-to-nontarget tissue ratio (TNT). The ^{18}F -FDS PET signal 2 hours after injection was significantly higher ($P < 0.0001$) at the sites of *Enterobacteriales* infection [TNT, 4.46; interquartile range (IQR), 3.32 to 4.95; Fig. 2G] than at the sites with oncologic/sterile inflammatory pathologies or infections due to non-*Enterobacteriales* (TNT, 1.14; IQR, 0.98 to 1.50). Using a TNT cutoff of 3.0, ^{18}F -FDS PET at 2 hours after injection could identify infection sites with a sensitivity



of 82% [95% confidence interval (CI), 55.8 to 95.3%] and a specificity of 100% (95% CI, 69.9% to 100%).

One patient (#5; table S2) with metastatic squamous cell carcinoma of the lung and *K. pneumoniae* pneumonia underwent ^{18}F -FDG PET/CT for clinical reasons 12 days after the study-related ^{18}F -FDS PET/CT (Fig. 3). Note the ^{18}F -FDG PET signal in the brain, which,

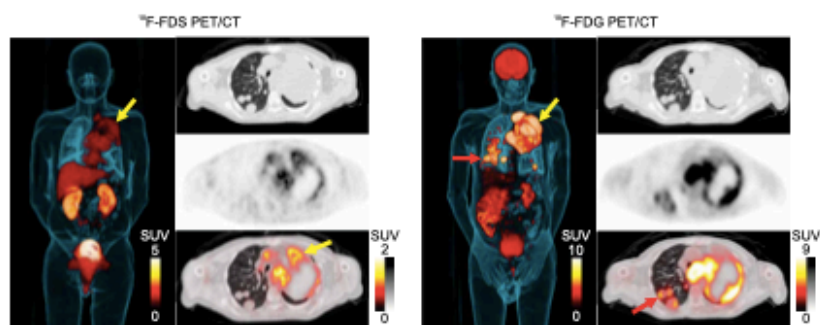


Fig. 3. Patient with *Enterobacteriales* infection and coexisting biopsy-proven oncologic disease. 3D MIP, transverse CT, PET, and overlaid PET/CT are shown from a 67-year-old male with squamous cell carcinoma of the lung and *K. pneumoniae* pneumonia that underwent ^{18}F -FDG PET for clinical reasons 12 days after the study-related ^{18}F -FDS PET. ^{18}F -FDG avid pulmonary lesions are noted in red arrows; ^{18}F -FDS PET signal is noted selectively in the infected tissues in yellow arrow. ^{18}F -FDG PET signal is noted in infected lesions and in the cancerous pulmonary lesions (red arrows). Also, note the ^{18}F -FDG PET signal in the brain, which is absent for ^{18}F -FDS PET.

as expected, is absent for ^{18}F -FDS PET. Whereas multiple pulmonary lesions were noted on CT and ^{18}F -FDG PET in this patient, several ^{18}F -FDG avid lesions (Fig. 3, red arrow) were not visualized on ^{18}F -FDS PET (Fig. 3, left panel).

^{18}F -FDS PET can monitor antibiotic treatments

Hospital-acquired infections due to MDR *Enterobacteriales* have become widespread in the United States and globally (3). CRE infections are associated with late diagnosis, lower rate of appropriate empirical therapy, and considerably higher mortality rates (4). Bacterial metabolism of ^{18}F -FDS is mediated via highly conserved metabolic pathways with rapid and substantial in vitro ^{18}F -FDS uptake by clinical strains, including those that are MDR (ESBL or CRE) (fig. S4B) (7, 8). Thirteen patients with microbiologically confirmed *Enterobacteriales* infections underwent repeat PET/CT after completion of antibiotic treatments (Fig. 4 and fig. S6). ^{18}F -FDS PET/CT from representative patients with successful or failed antibiotic treatment (due to the presence of MDR strain) is shown (Fig. 4, A and B). Overall, clinical improvement in patients (as determined independently by the clinical team) was associated with a significant decrease (65%) in the lesion-specific ^{18}F -FDS PET activity with TNT of 4.70 (IQR, 3.92 to 5.21) and TNT of 1.64 (IQR, 1.21 to 2.83) before and after completion of antibiotic treatments, respectively (Fig. 4C; $P = 0.002$). However, lack of clinical improvement, e.g., treatment failure due to the presence of an MDR strain, did not lead to a decrease in ^{18}F -FDS PET activity (Fig. 4D). Monitoring of antibiotic treatments using ^{18}F -FDS PET could be a highly valuable clinical tool for the management of infected patients.

One-step synthesis and formulation of ^{18}F -FDS from ^{18}F -FDG

^{18}F -FDS can be synthesized rapidly from ^{18}F -FDG, which is widely available. However, current methods require the use of specialized equipment available in a radiochemistry laboratory (8, 15). Therefore, we developed a self-contained, one-step, solid-phase cartridge system to synthesize and formulate ready-to-use ^{18}F -FDS from commercially available ^{18}F -FDG in under 10 min at room temperature (Fig. 5). When starting with 857 ± 81 MBq of ^{18}F -FDG, this kit-based approach yielded 524 ± 68 MBq of ^{18}F -FDS with >90% radiochemical

purity, which would be suitable for a typical ^{18}F -FDS dose required for an adult human (typically 370 MBq).

^{18}F -FDS can differentiate bacterial infection from SARS-CoV-2 pneumonitis in a hamster model

Enterobacteriales, especially *K. pneumoniae*, are a leading cause of secondary pneumonia in hospitalized patients with COVID-19. We, therefore, tested whether ^{18}F -FDS PET could differentiate SARS-CoV-2 pneumonia from secondary *K. pneumoniae* pneumonia in a hamster model (Fig. 6A and fig. S7). Seven days after SARS-CoV-2 inoculation, the infectious viral load in the lungs was $2.20 \pm 0.71 \log_{10}$ 50% tissue culture infective dose (TCID₅₀) per milliliter, and CT demonstrated a robust pneumonia with corresponding pulmonary ^{18}F -FDG PET signal (Fig. 6B). However, as anticipated, no pulmonary ^{18}F -FDS PET was noted with SARS-CoV-2 pneumonia (Fig. 6C and movie S1). PET was repeated in the same animals after establishing a secondary pneumonia with *K. pneumoniae* (Fig. 6D and movie S2). ^{18}F -FDS PET demonstrated a robust signal in the lungs (Fig. 6E; TNT, 7.39; IQR, 6.47 to 10.34), which was significantly higher than the pulmonary signal noted with SARS-CoV-2 pneumonia before the secondary bacterial pneumonia (TNT, 1.39; IQR, 1.25 to 1.52; $P = 0.002$). At the time of imaging, the bacterial burden was $10.45 \pm 0.35 \log_{10}$ colony-forming units (CFU) per milliliter, and the viral burden was $1.12 \pm 0.09 \log_{10}$ TCID₅₀ per milliliter.

DISCUSSION

When infections occur in an inaccessible site, clinical samples (blood, urine, stool, or cerebrospinal fluid) can often yield nondiagnostic results or are otherwise insensitive for deep-seated infections. For example, a systematic review demonstrated that blood cultures for patients hospitalized with pneumonia were true positives in 0 to 14% of patients (16). Invasive procedures (e.g., bronchoalveolar lavage) or surgical resection/biopsy is often used for establishing a definitive diagnosis. However, the time and effort required for invasive procedures can delay diagnosis, may be dangerous, and are generally limited to the most accessible lesion, identified at a single time point. Therefore, noninvasive tools such as CT, magnetic resonance imaging (MRI), or nuclear medicine techniques such as radiolabeled white blood cell imaging and ^{18}F -FDG PET are often incorporated into the diagnostic workup of such patients. However, those imaging tools detect morphologic changes or host immune responses to infection and thereby cannot reliably differentiate oncologic, inflammatory, or infectious pathologies (17). Moreover, host responses to infection may be reduced or absent in immunosuppressed patients (e.g., cancer chemotherapy, HIV/AIDS, and organ transplant), who are also most at risk for infection. Last, current approaches fail to provide rapid feedback about the effect, or adequacy, of a selected antibiotic regimen. Therefore, there is a need for rapid, whole-body imaging that could localize a pathogen with specificity and provide a quantitative

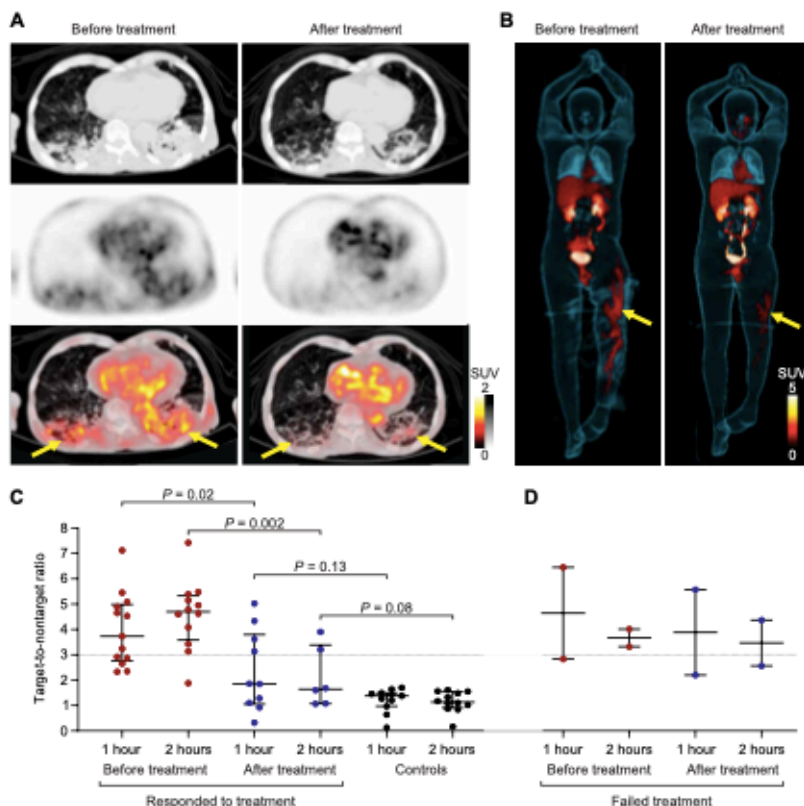


Fig. 4. ^{18}F -FDS PET can monitor antibiotic treatments. Thirteen patients with microbiologically confirmed *Enterobacteriales* infections underwent repeat ^{18}F -FDS PET/CT after completion of antibiotic treatments. Transverse CT, PET, and overlaid PET/CT from (A) a 91-year-old male with MDR, ESBL-producing *K. pneumoniae* pneumonia before and after appropriate treatment. The yellow arrows indicate the sites of infection. (B) 3D MIP from a 33-year-old male with MDR, ESBL-producing *E. coli* osteomyelitis (yellow arrows) before and after inadequate treatment. The extent of ^{18}F -FDS PET signal decreased, but the intensity did not change. (C and D) Target-to-nontarget tissue ratio at 1 and 2 hours after ^{18}F -FDS injection for all 13 patients before and after completion of antibiotic treatments. Ratios from control patients are shown as reference. (C) Eleven patients who clinically responded to treatment and (D) two patients with treatment failure are shown. Data are represented as median and IQR. Statistical comparisons were performed using a two-tailed Mann-Whitney *U* test.

readout of disease burden. However, thus far, no such technology is available clinically (17).

In this prospective study, ^{18}F -FDS PET/CT detected and localized infections at multiple body sites. Pneumonia was noted in several patients in the study, which is consistent with the observation that *Enterobacteriales* account for 30% of healthcare-associated pneumonias (18) and up to 55% of all ventilator-associated pneumonias (VAPs) (19, 20), with an associated mortality of 24 to 50% (21). Osteoarticular/soft tissue infections were also well visualized, especially due to low background in healthy bone and muscle tissues. *Enterobacteriales* are an important cause of lower extremity infections (22). In addition, *Salmonella* spp. are the leading cause of osteoarticular infections in patients with sickle hemoglobinopathies (23, 24), which are challenging to diagnose because their clinical and imaging findings are similar to those of bone infarcts, which also

occur frequently in these patients (25). *Salmonella* readily takes up ^{18}F -FDS and, therefore, ^{18}F -FDS PET may be useful for the diagnosis of infections in patients with sickle hemoglobinopathies (8). ^{18}F -FDS is rapidly cleared from circulation and primarily excreted through the urinary system, with small amounts also excreted through the hepatobiliary system. Subsequent ^{18}F -FDS PET signal is noted in the gastrointestinal system within 2 hours in mice and after 150 min in humans, a late time point that was not captured in the current study (8, 12). ^{18}F -FDS PET is still useful to diagnose abdominal infections. Spatial information provided by co-registering the PET with anatomical imaging (CT and MRI) can differentiate the intraluminal signal due to normal flora versus extraluminal signal representing an infection (e.g., peritonitis and abscess). As anticipated, only minimal signal was noted at the sites of oncologic or sterile inflammatory pathologies. Kang *et al.* (26) have recently demonstrated in mice that ^{18}F -FDS PET signal was significantly higher in tumors colonized by live *E. coli* than those without infection, and ^{18}F -FDS PET signal strongly correlated with the bacterial burden in tumors, supporting our observation demonstrating minimal ^{18}F -FDS uptake in cancerous lesions compared to that of tissues infected with *Enterobacteriales*.

PET has become a routine clinical tool, particularly for oncology, neurology, and cardiology (27), and is increasingly available in both developed and developing countries (28). PET typically takes 15 to 60 min (depending on body coverage), performed 1 to 2 hours after an intravenous administration of the tracer. New developments such as the total-body PET scanner will shorten the scan duration while increasing sensitivity (29). Because of the short half-life of most PET radionuclides, e.g., 109 min for ^{18}F , the tracer has to be synthesized either on-site or at a nearby location, which requires the availability of dedicated infrastructure (cyclotron) and trained personnel, thus limiting on-demand supply. A major advantage of ^{18}F -FDS is the ability to synthesize it rapidly from ^{18}F -FDG, which is widely available. In addition, high specific activity (radioactivity per mass) is not required because even low specific activity ^{18}F -FDS (20 to 50 Ci/mM) produces optimal imaging characteristics (7, 8). Therefore, we developed a self-contained, solid-phase cartridge system to synthesize and formulate ready-to-use ^{18}F -FDS from commercially available ^{18}F -FDG in under 10 min at room temperature with minimal equipment requirements. We believe this to be a major advantage of this technology as it could be synthesized on-demand at essentially any site with access to ^{18}F -FDG.

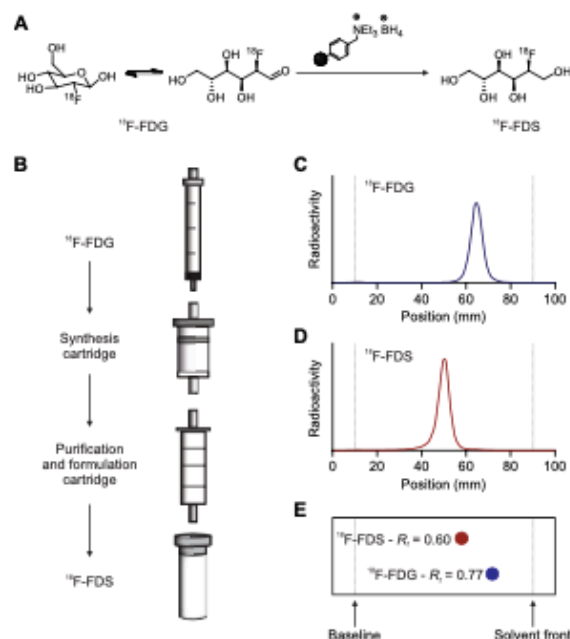


Fig. 5. Solid-phase cartridge system to synthesize ^{18}F -FDS. (A) ^{18}F -FDS synthesis from ^{18}F -FDG reduction at room temperature using a solid-supported borohydride source in under 10 min. (B) Schematic representation of kit-based synthesis and formulation of ^{18}F -FDS, which can be achieved by eluting a solution of ^{18}F -FDG through a solid-phase synthesis cartridge followed by a purification and formulation cartridge (Chromabond Set V). Radiochemical purity (>90%, $n = 3$) was assessed by radio-TLC, which shows that ^{18}F -FDG (C) and ^{18}F -FDS (D) have different retention times and that these are identical to those of cold FDG and FDS (E).

Although COVID-19 in humans is frequently a mild illness, some patients develop acute respiratory distress syndrome (ARDS) requiring mechanical ventilation (30). Prolonged ventilatory support, presence of comorbidities, and the increased use of immunomodulatory medications lead to an increased risk of bacterial pneumonia in this population (31, 32). In patients with severe COVID-19, an accurate and timely diagnosis is required to identify, or exclude, bacterial pathogens, which may present initially as coinfections or arise later in the course of the disease. Bronchoalveolar lavage samples have traditionally been used to isolate the causative pathogen and determine antibiotic therapy. However, some institutions have placed limitations on bronchoscopic procedures for patients with COVID-19 due to the risk of viral aerosolization (33). Chest radiographs and CT are also routinely used in the evaluation of VAP, but in some cases, they can be difficult to interpret because they rely on the presence of nonspecific structural abnormalities that can mimic other pathologies, including COVID-19 (34). Given that *Enterobacteriales* are the leading pathogens causing VAP in hospitalized patients with COVID-19 (5), we evaluated ^{18}F -FDS PET/CT in a hamster model of SARS-CoV-2 and *K. pneumoniae* coinfection. ^{18}F -FDS PET/CT was able to noninvasively differentiate

bacterial from viral pneumonia and determine the extent of the disease, with significantly higher TNT in the bacterial coinfection compared to viral pneumonia. These data support the specificity of ^{18}F -FDS PET/CT and its utility to detect secondary pneumonia due to *Enterobacteriales* infections.

Our study has several limitations. A large hepatic abscess was not adequately visualized by ^{18}F -FDS PET, demonstrating a focus of photopenia (fig. S8A), likely due to limited ^{18}F -FDS access into large avascular lesions. Central photopenia with large abscesses has also been noted with ^{18}F -FDG PET, which is generally considered highly sensitive (35). In addition, when using a TNT cutoff of 3.0, sites of *Enterobacteriales* infection in two patients with diabetes were below this threshold (fig. S8, B and C). Patients with diabetes have impaired venous drainage, which could have contributed to an increase in the background signal and thus a lack of a sufficiently high TNT. ^{18}F -FDS PET signal was also noted in likely uninfected fluids, e.g., large joints and pleural and peritoneal effusions (fig. S9), which needs to be assessed in future studies. PET uptake in pleural fluids may also be noted with ^{18}F -FDG (36), and the underlying basis for these findings needs to be better understood. Although the stringent criteria used in this study—prospective enrollment, microbiological confirmation required from the clinical/biopsy sample obtained from the infection site, and inclusion of patients who received ≤ 72 hours of antibiotic treatment by the time of first ^{18}F -FDS PET—are a major strength (17), they were also an impediment to patient recruitment. However, the patient cohort was representative of hospitalized patients in a tertiary care setting, and a validated PET tracer in clinical use would not be subject to such restrictions. Moreover, due to the ease of tracer synthesis, this technology could be implemented practically, especially with on-demand, one-step, solid-phase cartridge system synthesis, becoming a valuable adjunct to traditional approaches used for infectious diseases. Some brain tumors or inflammatory pathologies may accumulate ^{18}F -FDS (37, 38); however, these reports describe pituitary lesions, which are anatomically outside the blood-brain barrier, and thus have a higher background signal compared to the brain parenchyma. Moreover, some measurements were made at 5 min after tracer injection in the context of low signal with high background versus 60 and 120 min after tracer injection in our current study due to the time needed for clearance of the background signal (8, 12). Therefore, the findings noted in pituitary lesions are likely consistent with a nonspecific blood pool effect, that is, capillary leak at the site of inflammation or tumor (39). Last, although this study demonstrates proof of concept and feasibility of bacteria-specific tracers in patients, the sample size is relatively small. Therefore, larger studies are needed to validate these findings.

In summary, we present data from a prospective clinical study evaluating whole-body ^{18}F -FDS PET/CT in newly identified, microbiologically confirmed *Enterobacteriales* infections. We demonstrate that ^{18}F -FDS PET is safe, can rapidly and specifically detect and differentiate *Enterobacteriales* infections from other pathologies, and can monitor antibiotic efficacy with clinical improvement associated with decreases in PET signal. ^{18}F -FDS uptake in bacteria is mediated via highly conserved metabolic pathways with the ability to detect both drug-sensitive and MDR infection in situ. Although larger clinical studies are needed to validate these findings, our data support the role of ^{18}F -FDS as an easily synthesizable, bacteria class-specific PET tracer with clinical applications.

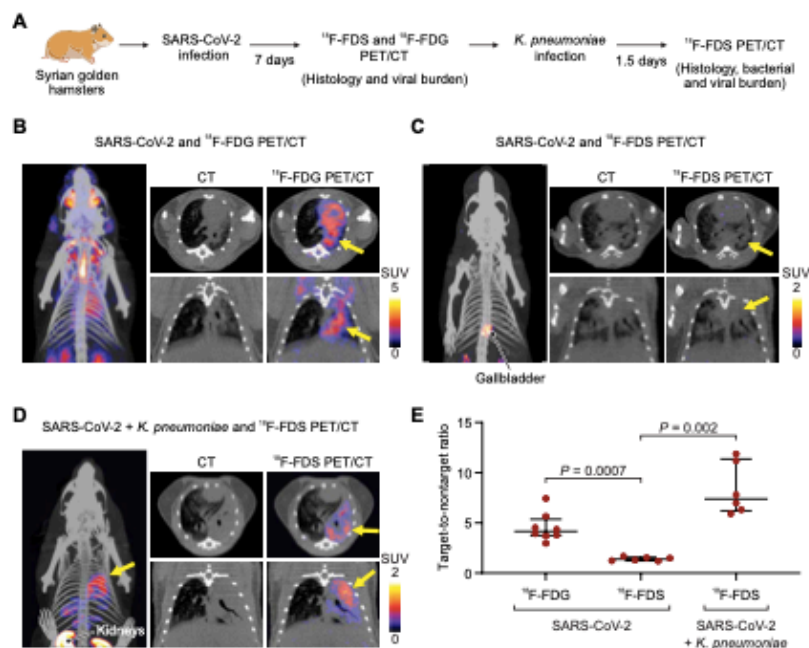


Fig. 6. ^{18}F -FDS and SARS-CoV-2 versus *K. pneumoniae* infections in hamsters. (A) Syrian golden hamsters were infected intranasally with SARS-CoV-2 and, 7 days later, imaged with ^{18}F -FDS or ^{18}F -FDG PET/CT. A group of animals was euthanized at that time point for histology and quantification of viral burden (fig. S7). A subset of animals was subsequently coinfecting with *K. pneumoniae* and imaged with ^{18}F -FDS PET 36 hours later. (B) 3D MIP, transverse (top) and coronal (bottom) CT, and overlaid PET/CT for ^{18}F -FDG in SARS-CoV-2-infected animals. The affected lung parenchyma is noted by yellow arrows. (C) 3D MIP, transverse (top) and coronal (bottom) CT, and overlaid PET/CT for ^{18}F -FDS in SARS-CoV-2-infected animals, where minimal signal is observed in the affected lung areas (yellow arrows). (D) 3D MIP, transverse (top) and coronal (bottom) CT, and overlaid PET/CT for ^{18}F -FDS in SARS-CoV-2- and *K. pneumoniae*-infected animals. Yellow arrows indicate the affected lung areas. (E) Target-to-nontarget ratio ^{18}F -FDS or ^{18}F -FDG injection for all animals ($n = 6$ animals per group of ^{18}F -FDS and $n = 8$ animals for ^{18}F -FDG). Data are represented as median and IQR. Statistical comparisons were performed using a two-tailed Mann-Whitney *U* test.

MATERIALS AND METHODS

Study design

The objective of this study was to assess ^{18}F -FDS PET in patients with infections due to *Enterobacteriales* and those with inflammatory and/or oncologic disease. No sample size calculations were performed. The investigators involved in this study were not blinded during data collection and/or analysis. Determination of whether a patient had clinical improvement after completion of antibiotic treatments was assessed independently by the clinical team, and the study team was blinded to these results. The study team had no role in the diagnosis or clinical management of the patients. Thirty-seven eligible patients (table S1) with microbiologically confirmed or high suspicion for *Enterobacteriales* infection and control patients with other pathologies were prospectively enrolled between November 2016 and May 2020 at the Fundación Cardiovascular de Colombia–Hospital Internacional de Colombia (HIC) or the Johns Hopkins Hospitals (JHH) (table S2). Written informed consent was obtained from all patients, and de-identified PET/CT images are presented. Six consented patients were excluded: one patient due to motion artifact during the scan, two patients because the tracer could not be administered, and three

patients because surgical procedures (debridement/drainage) were performed before the scan. An additional five enrolled patients were excluded because a definite microbiological (or other) diagnosis could not be established per our preestablished criteria. These studies were approved by the Hospital Internacional de Colombia (acta #459) and Johns Hopkins University Institutional Review Board Committee (IRB00097331). ^{18}F -FDS was used per the Good Manufacturing Practices for Manufacturing Radiopharmaceuticals, Ministerio de Salud y Protección Social, Colombia (40), or the U.S. Food and Drug Administration Radioactive Drug Research Committee program guidelines for investigational drugs (41). There was no external data and safety monitoring board. All protocols were approved by the Johns Hopkins University Biosafety, Radiation Safety, Animal Care and Use and Institutional Review Board Committees, and the Hospital Internacional de Colombia Institutional Review Board and Scientific Committees.

Imaging

^{18}F -FDS was synthesized at the Johns Hopkins PET Radiotracer Center using current good manufacturing practices or at the HIC radiopharmacy per local regulations. A slow intravenous push of 370.4 ± 47.2 MBq of ^{18}F -FDS was administered to study participants, and ^{18}F -FDS-PET/CT was acquired at 60 and 120 min after tracer injection. At JHH, a Siemens Biograph mCT 128-slice scanner was used and PET images were obtained from the skull vertex to mid-thigh with 3 min per bed position. At HIC, a General Electric Discovery IQ 600 scanner was used with the same acquisition parameters. Noncontrast CT scans were used for attenuation correction and localization. CT parameters included 120 kVp, 80 mAs, 4-mm slice thickness, and 3.3-mm slice increment.

Bacterial strains and assays

Reference bacterial strains purchased from the American Type Culture Collection [*E. coli* (ATCC 25922)] or Horizon Discovery [*E. coli* K-12 (parent strain, BW25113) and *E. coli* K-12 *srlA*, *srlB*, and *srlE* knockout strains (Keio Knockout Collection) (42)] and clinical strains from the clinical microbiology laboratory (HIC) were aerobically grown to an absorbance at 600 nm of 1.0 in lysogeny broth (LB). The number of CFU was enumerated by dilution and plated onto solidified LB medium. In vitro uptake of ^{18}F -FDS assays was performed as described before with 20 kBq/ml at 37°C with rapid agitation (8).

Solid-phase cartridge system to synthesize ^{18}F -FDS

Unless specified otherwise, all other reagents and materials were purchased from Sigma-Aldrich. A synthesis cartridge was prepared

by packing a solid-phase extraction tube (2 ml) with 500 mg of macro-porous triethylammonium methylpolystyrene borohydride (Biotage) between two frits (20- μ m porosity). 18 F-FDG (857 $\pm$ 81 MBq; Sofie Co.) was passed through a synthesis cartridge and Chromabond Set V cartridge (ABX), in tandem, over 5 min. The syringes were flushed with saline (20 ml, discarding the first 10 ml). 18 F-FDS (524 $\pm$ 68 MBq, pH 6, 61 $\pm$ 2% non-decay-corrected radiochemical yield) was eluted into a sterile vial in 97 $\pm$ 2% radiochemical purity assessed by radio-TLC (thin-layer chromatography) (AR-2000, Eckert & Ziegler).

Animal studies

Syrian golden hamsters (male, 6 to 7 weeks old; Envigo) were used. SARS-CoV-2/USA-WA1/2020 strain (BEI Resources, National Institute of Allergy and Infectious Diseases) was propagated with one passage in cell cultures in a biosafety level-3 (BSL-3) laboratory (JHH). Animals were challenged with 1.5×10^5 TCID₅₀ in 100 μ l by intranasal route (43). The pneumonia model, adapted from Weinstein *et al.* (8), was established by intratracheal installation of *K. pneumoniae* (ATCC 43816) (3 log₁₀ CFU). Live animals were imaged inside in-house developed, sealed biocontainment devices compliant with BSL-3 (44, 45). Seven days after infection, SARS-CoV-2-infected hamsters underwent PET using 18 F-FDG (7.13 $\pm$ 0.91 MBq, n = 8) and 18 F-FDS (cartridge-synthesized, 7.58 $\pm$ 0.59 MBq, n = 6) administered intravenously via the penile vein. A 15-min PET acquisition was performed using the nanoScan PET/CT (Mediso) 45 min (18 F-FDG) or 120 min (18 F-FDS) after tracer injection (8). PET images were acquired within one field of view. Noncontrast CT was subsequently acquired for anatomical co-registration. CT acquisition parameters included 480 projections, 50-kVp tube voltage, 600 μ A, 300-ms exposure time, 1:4 binning, and helical acquisition. Animals were infected with *K. pneumoniae* after imaging, and repeat 18 F-FDS PET (7.14 $\pm$ 2.32 MBq, n = 6) was performed 36 hours after the bacterial infection. No animal was excluded from the analyses.

Image analysis

Human PET data were visualized using OsiriX MD 11.0 DICOM Viewer (Pixmeo SARL). VivoQuant 2020 (Invivo) was used for animal data. VOIs were manually drawn using CT as a guide and applied to the PET dataset (44, 46).

Statistical analysis

Prism 8.2 (GraphPad Software Inc.) was used for the data analysis. CFU data (log₁₀ scale) and in vitro uptake of 18 F-FDS are presented as mean and SD. PET data presented as median and IQR were compared using a Mann-Whitney *U* test. Correlation analysis was performed using Pearson analysis. *P* values <0.05 were considered statistically significant. Individual subject-level data are reported in data file S1.

SUPPLEMENTARY MATERIALS

stm.sciencemag.org/cgi/content/full/13/589/ea9805/DC1

Fig. S1. Mechanism of 18 F-FDS accumulation in bacteria.

Fig. S2. Whole-body 18 F-FDS PET/CT.

Fig. S3. Biodistribution of 18 F-FDS in uninfected tissues.

Fig. S4. Bacterial burden and in vitro 18 F-FDS uptake.

Fig. S5. Correlation of 18 F-FDS PET with host inflammatory cells.

Fig. S6. 18 F-FDS PET target-to-nontarget ratios for all patients.

Fig. S7. Hamster model pathology.

Fig. S8. Patients with false-negative 18 F-FDS PET.

Fig. S9. 18 F-FDS accumulation in fluids.

Table S1. Selection criteria for patient enrollment in the clinical study.

Table S2. Patient characteristics.

Data file S1. Individual subject-level data.

Movie S1. 18 F-FDS PET/CT in a SARS-CoV-2-infected hamster.

Movie S2. 18 F-FDS PET/CT in a SARS-CoV-2 and *K. pneumoniae* coinfecting hamster.

View/request a protocol for this paper from Bio-protocol.

REFERENCES AND NOTES

1. M. S. Donnenberg, Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, J. E. B. Gerald L. Mandell, R. Dolin, Eds. (Elsevier Inc., 2010), chap. 218, pp. 2815–2833.
2. M. N. Guentzel, in *Medical Microbiology*, S. Baron, Ed. (University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996), chap. 26.
3. Centers for Disease Control and Prevention, *Antibiotic Resistance Threats in the United States* (Centers for Disease Control and Prevention, 2019); <https://cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>.
4. S. Sabino, S. Soares, F. Ramos, M. Moretti, A. P. Zavascki, M. H. Rigatto, A cohort study of the impact of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections on mortality of patients presenting with sepsis. *mSphere* **4**, e00052-19 (2019).
5. Z. Dhesi, V. I. Enne, D. Brealey, D. M. Livermore, J. High, C. Russell, A. Colles, H. Kandil, D. Mack, D. Martin, V. Page, R. Parker, K. Roulston, S. Singh, E. Wey, A. M. Swart, S. Stirling, J. A. Barber, J. O'Grady, V. A. Gant, Organisms causing secondary pneumonias in COVID-19 patients at 5 UK ICUs as detected with the FilmArray test. *medRxiv* **10**, 11101/2020.2006.2022.20131573, (2020).
6. J. F. Mac Fadden, *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria* (Williams & Wilkins, 1976).
7. A. A. Ordonez, E. A. Weinstein, L. E. Bambarger, V. Saini, Y. S. Chang, V. P. DeMarco, M. H. Klunk, M. E. Urbanowski, K. L. Moulton, A. M. Murawski, S. Pokkali, A. S. Kalinda, S. K. Jain, A systematic approach for developing bacteria-specific imaging tracers. *J. Nucl. Med.* **58**, 144–150 (2017).
8. E. A. Weinstein, A. A. Ordonez, V. P. DeMarco, A. M. Murawski, S. Pokkali, E. M. MacDonald, M. Klunk, R. C. Mease, M. G. Pomper, S. K. Jain, Imaging Enterobacteriaceae infection in vivo with 18 F-fluorodeoxyisobutyl positron emission tomography. *Sci. Transl. Med.* **6**, 259ra146 (2014).
9. M. Yamada, M. H. Saier Jr., Physical and genetic characterization of the glucitol operon in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **169**, 2990–2994 (1987).
10. J. Lengeler, Mutations affecting transport of the hexitols D-mannitol, D-glucitol, and galactitol in *Escherichia coli* K-12: Isolation and mapping. *J. Bacteriol.* **124**, 26–38 (1975).
11. M. E. Scott, R. E. Viola, The use of fluoro- and deoxy-substrate analogs to examine binding specificity and catalysis in the enzymes of the sorbitol pathway. *Carbohydr. Res.* **313**, 247–253 (1998).
12. W. Zhu, S. Yao, H. Xing, H. Zhang, Y. C. Tai, Y. Zhang, Y. Liu, Y. Ma, C. Wu, H. Wang, Z. Li, Z. Wu, Z. Zhu, F. Li, L. Huo, Biodistribution and radiation dosimetry of the Enterobacteriaceae-specific imaging probe [18 F]fluorodeoxyisobutyl determined by PET/CT in healthy human volunteers. *Mol. Imaging Biol.* **18**, 782–787 (2016).
13. C. König, H. P. Simmen, J. Blaser, Bacterial concentrations in pus and infected peritoneal fluid—Implications for bactericidal activity of antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* **42**, 227–232 (1998).
14. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America, Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **171**, 388–416 (2005).
15. Z. B. Li, Z. Wu, Q. Cao, D. W. Dick, J. R. Tseng, S. S. Gambhir, X. Chen, The synthesis of 18 F-FDS and its potential application in molecular imaging. *Mol. Imaging Biol.* **10**, 92–98 (2008).
16. N. Afshar, J. Tabas, K. Afshar, R. Silbergleit, Blood cultures for community-acquired pneumonia: Are they worthy of two quality measures? A systematic review. *J. Hosp. Med.* **4**, 112–123 (2009).
17. A. A. Ordonez, M. A. Sellmyer, G. Gowrishankar, C. A. Ruiz-Bedoya, E. W. Tucker, C. J. Palestro, D. A. Hammoud, S. K. Jain, Molecular imaging of bacterial infections: Overcoming the barriers to clinical translation. *Sci. Transl. Med.* **11**, eaax8251 (2019).
18. S. S. Magill, E. O'Leary, S. J. Janelle, D. L. Thompson, G. Dumyati, J. Nadle, L. E. Wilson, M. A. Kainer, R. Lynfield, S. Greissman, S. M. Ray, Z. Beldavs, C. Gross, W. Bamberg, M. Sievers, C. Concannon, N. Buhr, L. Warnke, M. Maloney, V. Ocampo, J. Brooks, T. Oyewumi, S. Sharmin, K. Richards, J. Rainbow, M. Samper, E. B. Hancock, D. Leapfrog, E. Scalise, F. Badrun, R. Phelps, J. R. Edwards; Emerging Infections Program Hospital Prevalence Survey Team, Changes in prevalence of health care-associated infections in U.S. hospitals. *N. Engl. J. Med.* **379**, 1732–1744 (2018).
19. N. J. Rhodes, C. E. Cruce, J. N. O'Donnell, R. G. Wunderink, A. R. Hauser, Resistance trends and treatment options in gram-negative ventilator-associated pneumonia. *Curr. Infect. Dis. Rep.* **20**, 3 (2018).

20. H. S. Sader, M. Castanheira, R. K. Flamm, Antimicrobial activity of ceftazidime-avibactam against Gram-negative bacteria isolated from patients hospitalized with pneumonia in US medical centers, 2011 to 2015. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, e02083-16 (2017).
21. J. Chastre, J.-Y. Fagon, Ventilator-associated pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **165**, 867–903 (2002).
22. V. Ki, C. Rotstein, Bacterial skin and soft tissue infections in adults: A review of their epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and site of care. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* **19**, 173–184 (2008).
23. J. Kaplan, S. Ikeda, J. C. McNeil, S. L. Kaplan, J. G. Vallejo, Microbiology of osteoarthral infections in patients with sickle hemoglobinopathies at Texas Children's Hospital, 2000–2018. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **38**, 1251–1253 (2019).
24. D. Tordjman, L. Holvoet, M. Benkerrou, B. Ilharreborde, K. Mazda, G. F. Pennecot, F. Fitoussi, Hematogenous osteoarthral infections of the hand and the wrist in children with sickle cell anemia: Preliminary report. *J. Pediatr. Orthop.* **34**, 123–128 (2014).
25. K. L. Vanderhave, C. A. Perkins, B. Scannell, B. K. Brighton, Orthopaedic manifestations of sickle cell disease. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* **26**, 94–101 (2018).
26. S. R. Kang, E. J. Jo, V. H. Nguyen, Y. Zhang, H. S. Yoon, A. Pyo, D. Y. Kim, Y. Hong, H. S. Bom, J. J. Min, Imaging of tumor colonization by *Escherichia coli* using ¹⁸F-FDS PET. *Theranostics* **10**, 4958–4966 (2020).
27. M. L. James, S. S. Gambhir, A molecular imaging primer: Modalities, imaging agents, and applications. *Physiol. Rev.* **92**, 897–965 (2012).
28. S. K. Jain, The promise of molecular imaging in the study and treatment of infectious diseases. *Mol. Imaging Biol.* **19**, 341–347 (2017).
29. S. R. Cherry, R. D. Badawi, J. S. Karp, W. W. Moses, P. Price, T. Jones, Total-body imaging: Transforming the role of positron emission tomography. *Sci. Transl. Med.* **9**, eaaf6169 (2017).
30. S. Richardson, J. S. Hirsch, M. Narasimhan, J. M. Crawford, T. McGinn, K. W. Davidson, the Northwell COVID-19 Research Consortium, D. P. Barnaby, L. B. Becker, J. D. Chelico, S. L. Cohen, J. Cookingham, K. Coppa, M. A. Diefenbach, A. J. Dominello, J. Duer-Hefele, L. Falzon, J. Gitlin, N. Hajizadeh, T. G. Harvin, D. A. Hirschwerk, E. J. Kim, Z. M. Kozel, L. M. Marast, J. N. Mogavero, G. A. Osorio, M. Qiu, T. P. Zanos, Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area. *JAMA* **323**, 2052–2059 (2020).
31. F. Zhou, T. Yu, R. Du, G. Fan, Y. Liu, Z. Liu, J. Xiang, Y. Wang, B. Song, X. Gu, L. Guan, Y. Wei, H. Li, X. Wu, J. Xu, S. Tu, Y. Zhang, H. Chen, B. Cao, Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: A retrospective cohort study. *Lancet* **395**, 1054–1062 (2020).
32. G. Grasselli, A. Zangrillo, A. Zanella, M. Antonelli, L. Cabrini, A. Castelli, D. Cereda, A. Coluccello, G. Foti, R. Fumagalli, G. Iotti, N. Latronico, L. Lorini, S. Merler, G. Natalini, A. Piatti, M. V. Ranieri, A. M. Scandroglio, E. Storti, M. Cecconi, A. Pesenti, COVID-19 Lombardy ICU Network, Baseline characteristics and outcomes of 1591 patients infected with SARS-CoV-2 admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA* **323**, 1574–1581 (2020).
33. M. M. Wahidi, S. Shojaaee, C. R. Lamb, D. Ost, F. Maldonado, G. Eapen, D. A. Caroff, M. P. Stevens, D. R. Ouellette, C. Lilly, D. D. Gardner, K. Glisinski, K. Pennington, R. Alalawi, The use of bronchoscopy during the Coronavirus Disease 2019 pandemic: CHEST/AAIBP guideline and expert panel report. *Chest* **158**, 1268–1281 (2020).
34. R. G. Wunderink, Radiologic diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* **117**, 1885–1905 (2000).
35. Q. Xia, Y. Feng, C. Wu, G. Huang, J. Liu, T. Chen, X. Sun, S. Song, L. Tong, Y. Ni, Differentiation between malignant and benign solitary lesions in the liver with ¹⁸F-FDG PET/CT: Accuracy of age-related diagnostic standard. *J. Cancer* **6**, 40–47 (2015).
36. J. M. Porcel, P. Hernandez, M. Martinez-Alonso, S. Bielsa, A. Salud, Accuracy of fluorodeoxyglucose-PET imaging for differentiating benign from malignant pleural effusions: A meta-analysis. *Chest* **147**, 502–512 (2015).
37. Z. Kong, Y. Wang, W. Ma, X. Cheng, Role of ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG) and ¹⁸F-2-fluorodeoxy sorbitol (FDS) in autoimmune hypophysitis: A case report. *BMC Endocr. Disord.* **20**, 84 (2020).
38. X. Cheng, W. Zhu, R. Cu, Increased ¹⁸F-2-Fluorodeoxyglucose (¹⁸F-FDS) activity in a pituitary spindle cell carcinoma. *Clin. Nucl. Med.* **41**, 953–955 (2016).
39. M. S. Javadi, A. A. Ordonez, S. K. Jain, Re: Increased ¹⁸F-2-Fluorodeoxyglucose (¹⁸F-FDS) activity in a pituitary spindle cell carcinoma. *Clin. Nucl. Med.* **42**, 649 (2017).
40. Ministerio de Salud y Protección Social, Republica de Colombia. Resolución 4245 de 2015; https://minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%204245%20de%202015.pdf.
41. U.S. Food and Drug Administration, Guidance for Industry and Researchers: The Radioactive Drug Research Committee: Human Research Without an Investigational New Drug Application (U.S. Food and Drug Administration, 2010); <http://fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM163892.pdf>.
42. T. Baba, T. Ara, M. Hasegawa, Y. Takai, Y. Okumura, M. Baba, K. A. Datsenko, M. Tomita, B. L. Wanner, H. Mori, Construction of *Escherichia coli* K-12 in-frame, single-gene knockout mutants: The Keio collection. *Mol. Syst. Biol.* **2**, 2006.0008 (2006).
43. M. Imai, K. Iwatsuki-Horimoto, M. Hatta, S. Loeber, P. J. Halfmann, N. Nakajima, T. Watanabe, M. Ujie, K. Takahashi, M. Ito, S. Yamada, S. Fan, S. Chiba, M. Kuroda, L. Guan, K. Takada, T. Armbrust, A. Balogh, Y. Furusawa, M. Okuda, H. Ueki, A. Yasuhara, Y. Sakai-Tagawa, T. J. S. Lopes, M. Kiso, S. Yamayoshi, N. Kinoshita, N. Ohmagari, S. I. Hattori, M. Takeda, H. Mitsuya, F. Krammer, T. Suzuki, Y. Kawaoka, Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **117**, 16587–16595 (2020).
44. E. W. Tucker, B. Guglieri-Lopez, A. A. Ordonez, B. Ritchie, M. H. Klunk, R. Sharma, Y. S. Chang, J. Sanchez-Bautista, S. Frey, M. A. Lodge, S. P. Rowe, D. P. Holt, J. V. S. Gobburu, C. A. Peloquin, W. B. Mathews, R. F. Dannals, C. A. Pardo, S. Kannan, V. D. Ivaturi, S. K. Jain, Noninvasive ¹¹C-rifampin positron emission tomography reveals drug biodistribution in tuberculous meningitis. *Sci. Transl. Med.* **10**, eaau0965 (2018).
45. A. A. Ordonez, H. Wang, G. Magombedze, C. A. Ruiz-Bedoya, S. Srivastava, A. Chen, E. W. Tucker, M. E. Urbanowski, L. Pieterse, E. Fabian Cardozo, M. A. Lodge, M. R. Shah, D. P. Holt, W. B. Mathews, R. F. Dannals, J. V. S. Gobburu, C. A. Peloquin, S. P. Rowe, T. Gumbo, V. D. Ivaturi, S. K. Jain, Dynamic imaging in patients with tuberculosis reveals heterogeneous drug exposures in pulmonary lesions. *Nat. Med.* **26**, 529–534 (2020).
46. V. P. DeMarco, A. A. Ordonez, M. Klunk, B. Prideaux, H. Wang, Z. Zhuo, P. J. Tonge, R. F. Dannals, D. P. Holt, C. K. Lee, E. A. Weinstein, V. Dantoli, K. E. Dooley, S. K. Jain, Determination of [¹¹C]rifampin pharmacokinetics within *Mycobacterium tuberculosis*-infected mice by using dynamic positron emission tomography bioimaging. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 5768–5774 (2015).

Acknowledgments: We thank all the patients who participated in the study. In addition, we want to thank the Nuclear Medicine, Internal Medicine, and Microbiology teams at Johns Hopkins Hospitals (JHH) and Hospital Internacional de Colombia (IHC) for supporting the human imaging studies. We also thank M. Lopez, D. C. Lesmes, and N. C. Serrano for their support with the clinical studies at IHC; K. Flavanah and P. De Jesus (JHH) for supporting the animal studies; C. K. Bullen (JHH) for viral studies; and H. T. Ravert (JHH) for assisting with radiochemical syntheses. **Funding:** This work was funded by the U.S. NIH (R01-HL131829, R01-AI153349, and Director's Transformative Research Award R01-EB020539), Department of Defense's Congressionally Directed Medical Research Programs PR-171338P1, Maryland Innovation Initiative to S.K.J., and Colciencias 656677758411 #832-2017 to U.G. Animal studies were supported by the Center for Infection and Inflammation Imaging Research (Johns Hopkins University). Support from P41EB024495 is also acknowledged. **Author contributions:** A.A.O. and S.K.J. conceptualized and designed the study. A.A.O., L.M.W., A.F.R., C.F.R., L.G.U., F.R.D., S.P.R., and S.K.J. recruited patients and obtained consent. L.M.W., D.P.H., and R.F.D. synthesized ¹⁸F-FDS. F.M. developed the solid-phase cartridge system to synthesize ¹⁸F-FDS. A.A.O., L.M.W., and S.A. performed in vitro experiments. A.A.O., F.M., and C.A.R.-B. performed animal studies. S.P.R., M.G.P., and U.G. provided expertise on PET/CT imaging and image analysis. V.R.C. provided logistical support for patient imaging. A.A.O., L.M.W., U.G., and S.K.J. analyzed the data and performed statistical analysis. A.A.O. and S.K.J. wrote the initial draft, and all coauthors edited the manuscript. U.G. and S.K.J. provided funding and coordinated and supervised the project. **Competing interests:** A.A.O. and S.K.J. are investigators on a research grant from T3 Pharmaceuticals AG, Switzerland and NovoBiotic Pharmaceuticals, Cambridge, MA, to Johns Hopkins University. A.A.O. received consulting fees from Cubera Inc. A.A.O., M.G.P., and S.K.J. are co-inventors on pending patent US20150250906A1 on bacteria-specific labeled substrates as imaging biomarkers, filed by Johns Hopkins University. A.A.O., F.M., and S.K.J. are co-inventors on pending patent USPA #63/071,755 on the solid-phase cartridge to formulate ready-to-use ¹⁸F-FDS, filed by Johns Hopkins University. **Data and materials availability:** All data associated with this study are present in the paper or the Supplementary Materials.

Submitted 26 September 2020

Accepted 10 March 2021

Published 14 April 2021

10.1126/scitranslmed.abe9805

Citation: A. A. Ordonez, L. M. Wintaco, F. Mota, A. F. Restrepo, C. A. Ruiz-Bedoya, C. F. Reyes, L. G. Uribe, S. Abhishek, F. R. D'Alessio, D. P. Holt, R. F. Dannals, S. P. Rowe, V. R. Castillo, M. G. Pomper, U. Granados, S. K. Jain, Imaging *Enterobacteriales* infections in patients using pathogen-specific positron emission tomography. *Sci. Transl. Med.* **13**, eabe9805 (2021).

9.1 Conclusiones

El estudio de PET/CT con ^{18}F -FDS es una técnica útil en el diagnóstico de los pacientes con infección bacteriana producida por *Enterobacterales*. Su utilización ha mejorado la sensibilidad diagnóstica del 52% al 90,7% y establecido un diagnóstico concluyente en el 95% de los casos en la población general.

La PET/CT con ^{18}F -FDS es una técnica de imágenes no invasiva que permitió obtener imágenes tridimensionales de alta resolución de todo el cuerpo para identificar la ubicación exacta de los focos de infecciones generados por los *Enterobacterales*, esta metodología fue muy útil particularmente para algunos pacientes que presentaron infecciones profundas de difícil acceso que debían ser atendidas de manera inmediata, como abscesos cerebrales, infecciones en líquido cefalorraquídeo, cáncer entre otras. En algunos casos las muestras clínicas (sangre, orina, heces o líquido cefalorraquídeo) a menudo pueden dar resultados no diagnósticos o requieren de procedimientos invasivos que pueden retrasar el dictamen médico, pueden ser de difícil acceso y generalmente se limitan a la lesión más viable, identificada en un único momento. Por lo tanto, las herramientas no invasivas de medicina nuclear como PET/CT con ^{18}F -FDS deben ser incorporadas de los estudios de diagnóstico para pacientes con altas sospechas clínicas de estas infecciones.

Se logró comprobar la coincidencia de la investigación con los resultados obtenidos en estudios previos de PET con ^{18}F -FDS, permitiendo detectar los focos de infección con especificidad bacteriana y seguro para ser usado en humanos. Las imágenes que se obtuvieron permiten a la vez observar cambios morfológicos, analizar la respuesta inmunitarias del hospedero a la infección y al mismo tiempo ser una alternativa eficaz que proporciona información rápida sobre el efecto de la antibioticoterapia seleccionada para su tratamiento.

En general todos los radiotrazadores deben ser lo suficientemente estable tanto in vitro e in vivo, no deben ser tóxicos en las concentraciones que se van a utilizar y debe encontrar el objetivo según lo previsto en ensayos experimentales previos, cumpliendo estas características se podría considerar que el ^{18}F -FDS promete ser un buen radiotrazador que permita la localización exacta de infecciones por *Enterobacterales* sin que exista ningún riesgo para la salud humana.

9.2 Productos del capítulo II

Durante el desarrollo de esta investigación se obtuvieron los siguientes productos.

7. Publicación de un artículo científico en la revista Q1, Science Translational Medicine, en el siguiente enlace se pueden acceder al artículo completo <https://stm.sciencemag.org/content/13/589/eabe9805>.
8. Presentación de poster en el **Congreso Nacional de Medicina Nuclear 2019**. *Imagenología de Infecciones por Enterobacteriales in vivo con Tomografía de Emisión de Positrones y ^{18}F Fluorodeoxisorbitol*. Ulises Granados, Álvaro A. Ordoñez, Luz M. Wintaco, Digson M. Lambraño I, Jose R. Bustamante et al. Realizado entre el 16 al 18 agosto Bucaramanga- Colombia 2019.
9. Presentación de oral en el **Congreso Mundial de Imágenes Moleculares WMIC 2019**. *Noninvasive Diagnosis and Monitoring of Pneumonia using Pathogen-Specific ^{18}F -Fluorodeoxysorbitol (FDS) PET*. Álvaro A. Ordoñez, Ulises Granados, Luz M. Wintaco, Camilo A. Ruiz-Bedoya, Sanjay K. Jain et al. Realizado entre el 4-7 de septiembre Montreal (Canadá).
10. Ganadora del Programa las Mujeres en la Ciencia 2021. L'Oreal- Minciencias.

11. Capítulo III.

Epidemiología y susceptibilidad antimicrobiana de las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud.

Article Type: Original Article

Title: Effects of the COVID-19 pandemic in the epidemiology and antimicrobial susceptibilities of healthcare-associated infections among patients admitted to a tertiary hospital in Colombia

Luz M. Wintaco^{1,2*}, Doris C. Quintero-Lesmes³, José A. Vargas Soler^{4,5}, Diego M. Barrera^{5,6}, Laura N. Palacio⁵, Ulises Granados¹, Luis G. Uribe^{5,6*}

¹ *Nuclear Medicine Unit, Hospital Internacional de Colombia, Bucaramanga, Colombia*

² *Doctorate in Biomedical and Biological Sciences, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia*

³ *Research Center, Fundación Cardiovascular de Colombia, Bucaramanga, Colombia*

⁴ *Pediatric Infectious Diseases Unit, Hospital Internacional de Colombia, Fundación Cardiovascular de Colombia, Bucaramanga, Colombia*

⁵ *Infection Control Committee, Hospital Internacional de Colombia, Fundación Cardiovascular de Colombia, Bucaramanga, Colombia*

⁶ *Infectious Diseases Unit, Hospital Internacional de Colombia, Fundación Cardiovascular de Colombia, Bucaramanga, Colombia*

ABSTRACT

Objective:

To describe the epidemiology and antimicrobial susceptibility of Healthcare Associated Infections reported between 2018 and 2020.

Methods:

We conducted a retrospective observational study of Healthcare Associated Infections (HAIs), which was carried out in a fourth level hospital in the city of Bucaramanga (Colombia). We included all in-patients with a confirmed diagnosis of HAI, included in a prospective database for the Committee on nosocomial infections during the years 2018 to 2020 identifying a total of 504 HAIs. All clinical data, demographics, microbiological results and microbial susceptibility information was collected, the latter information taken from the

Whonet software for antimicrobial resistance surveillance with 391 isolates accumulated during 2018 to 2020. Clinical information was collected from the hospital's electronic medical records. We performed statistical analysis using Stata statistical software version 15.0 (Stata Corporation, College Station, TX).

Results:

We identified 504 cases of Healthcare Associated Infections (during 2018 to 2020. The overall in-hospital infection rate was 2.55 / 1000 patient-days. The median age of pediatric patients was 5 years and adults 56 years, 57% were male. The most common admission diagnoses were complications of oncologic disease (31%), respiratory failure (13%), and tissue infections (7%). Mortality was 13% at 30 days in bacteremia. The most common source of infection for bacteremia was catheter-associated (37%). Gram-negative bacilli were the most frequent in all types of infection; *Klebsiella pneumoniae* ranked first followed by *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* together representing 58% of all identified cases of HAIs. For Enterobacteriaceae, susceptibility to amikacin and carbapenems was >85%, contrary to *Staphylococcus aureus* where resistance to oxacillin was 47%. In the univariate analysis for bacteremia, previous infectious diseases $p<0.06$, days of hospital stay $p<0.0002$ and COVID-19 diagnosis $p<0.0001$ statistical differences were observed between living and deceased.

Conclusions: Gram-negative bacilli are the most frequent microorganisms in HAI. Bacteremia is associated with high mortality in patients with immunosuppression or oncologic disease. Resistance to cephalosporins and carbapenems was the most common.

Keywords: Bacteremia; Gram-negative; infection; intensive care unit; MDR; antimicrobial resistance; nosocomial infections; hospital-acquired infections; HAI

Introduction

Healthcare-associated infections (HAIs) continue to contribute substantially to hospital morbidity and mortality.(101) Especially when associated with antibiotic-resistant microorganisms. They may occur in as many as 4% of hospitalized patients.(102,103)The increase in the incidence of HAIs is largely due to the multiple interventions of modern medicine, by using new medical devices, organ transplants, broad-spectrum antibiotics, long hospital stays, among others.(104)These HAIs have become one of the most important challenges in medical practice, as pointed out by the WHO (World Health Organization).(105)

It is estimated that the prevalence of HAIs in developing countries is significantly higher compared to developed countries, as described in a recent meta-analysis where regions such as North America and Europe report a prevalence between 4 to 7 cases per 100 hospitalized patients, contrary to reports in Latin America, Africa and Asia where the prevalence can reach up to 16 cases per 100 hospitalized patients.(106) This situation is even more worrying when describing the incidence of HAIs in Intensive Care Units (ICU), where countries such as Brazil reach between 14-62 cases per 1000 patients compared to the United States which reports between 6-9 cases per 1000 patients.(44,107) This data coincides with estimates that between 20-30% of all HAIs in the hospital are acquired in ICUs with the presence of Multi-Drug Resistant Organisms (MDRO). (108,109)

HAIs may increase considerably because of the current SARS-CoV2 pandemic situation and the complications that bring some of these critically ill patients to ICUs, where some invasive airway devices, urinary or central venous catheters are used.(110) Risk factors for acquiring HAIs; which combined, may increase susceptibility to develop an infection secondary to COVID-19. (111)

The objective of this study is to perform an epidemiological description of HAIs in a 4th level hospital; including demographic data, microbiological identification, antimicrobial susceptibility. Information collected from the hospital's electronic medical records. Which

allows obtaining valuable information on HAIs during the last three years. The aim is to implement new promotion and prevention measures for the control of HAIs that contribute to reduce the number of infections reported each year.

METHODS

Study design

This was an observational retrospective study aimed at describing the changes in HAIs in the Hospital Internacional de Colombia, Fundación Cardiovascular de Colombia, a tertiary-care hospital during the COVID-19 pandemic. The study was conducted over three years, from January 1, 2018 to December 31, 2020 and included the analysis of 244.889 hospital admissions during this period. We analyzed all patients admitted to the hospital from January 1, 2018 to March 29, 2020 (168.034 hospital admissions), the day when the first SARS-CoV-2 positive patient was admitted to our institution, and compared it to patients admitted from March 30, 2020 until December 31, 2020 (76.885 hospital admissions). This study was approved by the ethics committee of the Fundación Cardiovascular de Colombia (Acta # 525 of December 15, 2020).

Clinical setting and data collection

The study took place in a Joint Commission-accredited 286-bed tertiary care institution in Santander, Colombia. The hospital has a 187-bed capacity in adult general wards and 99 in adult intensive care unit (ICU). Case definition for HAI followed the Centers for Disease Control HAI criteria (112), which defines HAI as a localized or systemic condition resulting from an adverse reaction to the presence of an infectious agent(s) or its toxin(s). There must be no evidence that the infection was present or incubating at the time of admission to the acute care setting. All patients with a confirmed diagnosis of HAI (n=504) were included in the analysis. Clinical and demographic data were collected from the hospital's electronic medical records, including age, sex, date of admission, type of admission, discharge date, status of the patient at discharge, pre-existing comorbidities; antimicrobial therapy; diagnosed HAIs and microbiological cultures performed, locating the site of infection, date of HAI onset and microbiological confirmation. The analysis for site of

infection was performed according to the following groups (113), bloodstream, includes bacteremia associated with central venous catheter, Hickman Broviac catheter, Mahurkar catheter, peripherally inserted central catheter, fungemia and bacteremia associated with mucosal barrier injury; urinary tract includes urinary tract and bladder catheter-associated infections; surgical site includes superficial and deep surgical site infection, organ space surgical site infection, and soft tissue infection; respiratory tract includes tracheobronchitis associated with mechanical ventilation, pneumonias, tracheitis, aspiration pneumonia and aspiration tracheobronchitis. For COVID-19 patients, laboratory confirmation of SARS-CoV-2 was defined as a positive result of real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay of nasal and pharyngeal swabs.

Microbiological identification

For each case of HAI, the type of infection, pathogen identification and microbiological susceptibility were obtained from the medical record and WHONET Software (version 5.6), used for surveillance of antimicrobial susceptibility (114). Identification of microbial species and antimicrobial resistance patterns were determined using the VITEK-2 Compact system (BioMerieux SA, France). The following quality control strains were included: *Staphylococcus aureus* [American Type Culture Collection (ATCC) 25923], *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603; BAA1705) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

Statistical analysis

Clinical and microbiological data was collected and by the principal investigator and data analyst. For statistical analyses, a descriptive analysis was initially performed, where categorical values are presented as proportions and continuous variables as means and standard deviation (SD). All data were analyzed in Stata statistical software version 15.0 (Stata Corporation, College Station, TX). Statistical significance was defined as a p-value <0.05.

RESULTS

A total of 244,889 hospital admissions comprising 168,034 hospital admissions recorded from January 1, 2018, to March 29, 2020 (referred to as the 2018/2019 cohort) and 76,855 hospital admissions from March 30, 2020, to December 31, 2020 (described as the 2020 cohort). Among all the admissions, 504 cases of HAI were reported, with an average of 166.5 cases per year in the 2-year period prior to COVID-19 (total of 333 cases, rate of 0.13% per hospital admission), and 171 cases reported after the first case of SARS-CoV-2 infection was confirmed in the institution on March 29, 2020 (rate of 0.67% per hospital admission). A detailed description of the patient demographics is provided in (**Table 1**).

In both cohorts, most of the patients were men, especially in the 2020 cohort (65%). The mean age was similar between cohorts (46.3 vs 48.6 years), but the proportion of pediatric patients was higher in the 2018/2019 cohort (25.2%). In the 2018/2019, cancer, immunodeficiencies, and hypertension were the most common coexisting conditions, compared to the 2020 cohort where central nervous system (CNS) pathologies, immunodeficiencies, and hypertension were the most common. In the 2020, there was a 21.4%, 12.6%, and 11.6% increase in patients with HAIs that also presented with CNS pathologies, chronic renal disease, and obesity, respectively, compared to the 2018/2019 cohort ($p < 0.0001$). Conversely, there was a 25.8% reduction in the 2020 cohort, compared to the 2018/2019 cohort, among patients with cancer and HAIs. In both cohorts, the most commonly identified site of infection was blood. However, in the 2020 cohort there was a significant reduction in surgical site infections ($p = 0.0002$), likely due to the decreased surgical procedures performed in our institution during the early stages of the COVID-19 pandemic. While the median length of stay decreased between the 2018/2019 cohort (31 days) and the 2020 cohort (28 days), the proportion of patients admitted to the ICU increased by 16.3%. As for invasive devices, patients hospitalized in 2020 were more likely to have urinary catheters and respiratory support through mechanical ventilation. Overall mortality was significantly higher in the 2020 cohort (28.0%), with a mortality rate of 5.77 (95% CI 4.3-7.6) per 1000 patients-days. By contrast, the mortality rate in the 2018/2019 was 2.9 (95% CI 2.0-4.0) per 1000 patients-days. Rates of readmission were

similar between both cohorts (16.8% vs 17.5%, $p = 0.84$). Within the cases observed in the 2020 cohort, 58 HAIs (33.9%) corresponded to patients who tested positive for SARS-CoV-2. These patients were more likely to be male, older (median age 60.7 years) and obese (**Supplementary Table 1**). A higher proportion of the patients with both SARS-CoV-2 infection and HAIs died (63.7%) compared to those without SARS-CoV-2 (12.5%). However, the mortality rate was similar between subgroups.

Table 1. Characteristics of the patients (n=504)

Results are expressed as number (percentage), median (interquartile range) or mean (standard deviation).

	2018/2019 cohort	2020 cohort	<i>p</i> value
Patients	333	171	-
Observation time, person-days	114,776	83,087	-
Gender (female)	153 (46%)	60 (35%)	0.0181‡
Age, years (mean ± SD)	46.3 ± 28.0	48.6 ± 23.8	0.3594‡
Pediatric patients (<18 years)	84 (25.2%)	29 (16.9%)	0.0345‡
Age of pediatric patients, (mean ± SD)	4.4 ± 5.1	7.42 ± 6.2	0.3594¥
Age of adult patients, (mean ± SD)	56.8 ± 17.7	57.0 ± 15.9	0.9012¥
Coexisting conditions			
Coronary heart disease	36 (10.8%)	19 (11.1%)	0.9186‡
Chronic lung disease	27 (8.1%)	27 (15.7%)	0.0090‡
Autoimmune disease	12 (3.6%)	9 (5.2%)	0.3774‡
Endocrine disease	17 (5.1%)	10 (5.8%)	0.7258‡
Chronic renal disease	29 (8.7%)	37 (21.6%)	< 0.0001‡
Hypertension	115 (34.5%)	59 (34.5%)	-
Diabetes mellitus	43 (19.9%)	44 (25.7%)	0.1362‡
Obesity	10 (3.0%)	25 (14.6%)	< 0.0001‡
Psychiatric disorder	66 (19.8%)	27 (15.7%)	0.0540‡
Cancer	152 (45.6%)	34 (19.8%)	<0.00001‡
Genetic disease	7 (2.1%)	12 (7.1%)	0.0061‡
Central nervous system disorders	61(18.3%)	68 (39.7%)	< 0.0001‡
Immunosuppression	96 (28.8%)	61 (35.6%)	0.1188‡
Infection site			
Bloodstream	143 (42.9%)	81 (47.3%)	0.3470‡
Urinary tract	55 (16.5%)	41 (23.9%)	0.0452‡
Surgical site	91 (27.3%)	22 (12.8%)	0.0002‡
Respiratory tract	44 (13.2%)	27 (15.7%)	0.4449‡
Length of hospital stay (days), median (IQR)	77 (18-95)	33 (17-50)	0.4278¥
Admission to ICU	121 (36.3)	90 (52.6%)	00004‡
Central venous catheter	117 (35.1)	66 (38.5%)	0.5046‡
Urinary catheter	66 (19.8)	43 (25.1%)	0.1113‡
Invasive ventilation	53 (15.9%)	35 (20.4%)	0.2025‡

Positive RT-PCR for SARS-CoV-2	N/A	58 (33.9%)	-
Mortality	33 (9.9%)	48 (28.0%)	< 0.0001‡
Mortality rate (95% CI) per 1000 patient-days	2.9 (2.01- 3.99)	5.77 (4.30- 7.59)	-
30-day mortality in patients with bacteremia	17 (5.1%)	19 (11.1%)	0.0133‡
Re-admission	56 (16.8%)	30 (17.5%)	0.8433‡

Notes: ‡*p* value determined by Chi2 test; **p* value determined by Student's *t* test.

While the overall proportion of patients with HAIs was similar between cohorts, patients with HAIs in the 2020 cohort were more likely to become infected earlier after being admitted to the hospital (**Figure 1**). The frequency of HAIs by site of infection and hospitalization service was similar in most cases, except for bloodstream infections, urinary tract infections, and respiratory tract infections of patients in intensive care unit, which increased to > 100% for respiratory infections in the 2020 cohort, according to the significant increase in the 30% available beds ICU in the number of COVID-19 cases seen (**Figure 2, Supplementary Table 2**).

Figure 1. Cumulative incidence of HAIs

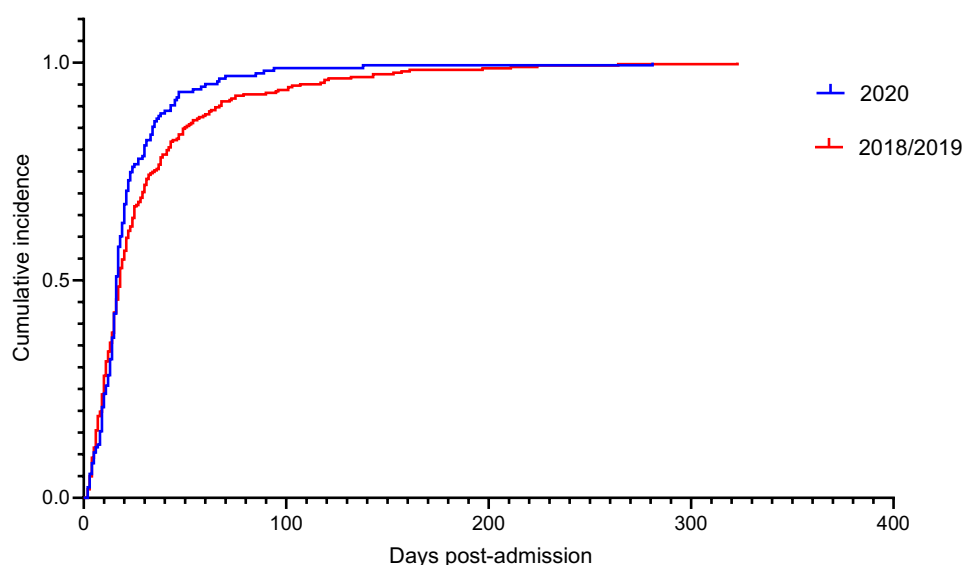
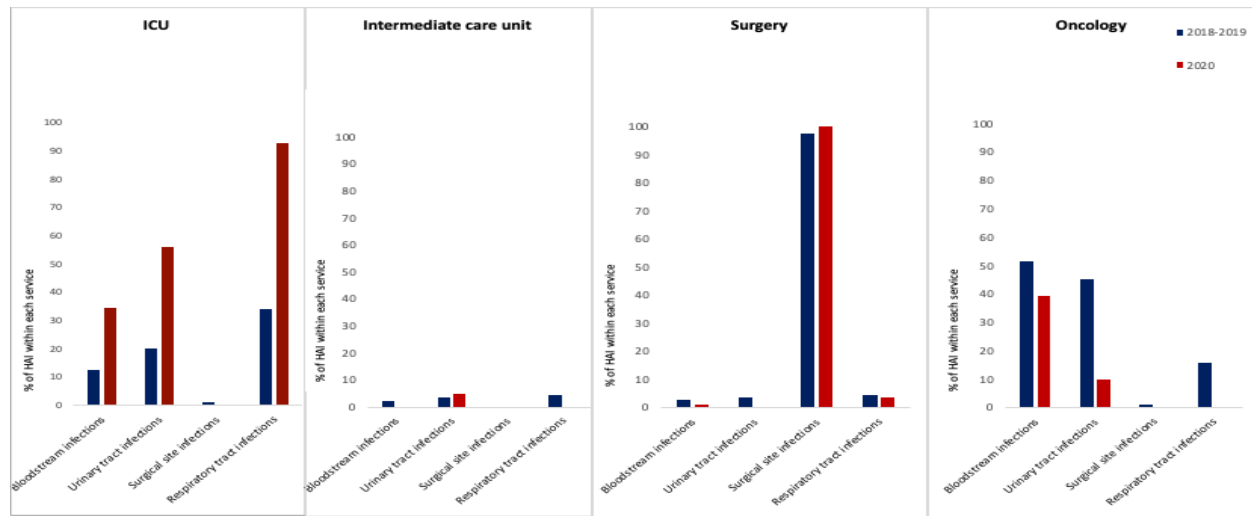


Figure 2. Frequency of HAIs per site of infection and hospitalization service



Most infections were monomicrobial 486 (98%), only 27 infections were polymicrobial, of which 17 were Gram negative pathogen and 8 with one Gram positive and one Gram negative organism. There was one mixed infection with two fungi and another infection with one Gram negative organism and one fungus. In both cohorts, the most commonly isolated microorganism was *Klebsiella pneumoniae*, followed by *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* (**Table 2**). Overall, *Enterobacterales* were the causative organisms in 48% of HAIs in the 2018/2019 cohort and 46.2% of HAIs in the 2020 cohort. In the 2020 cohort, there was a 5% increase in cases of *Pseudomonas aeruginosa* compared to the prior years. Similarly, infections by *Candida spp.* Increased by 5.8%. A detailed distribution of causative organism per site of infection is provided in (**supplementary Figure 3**). While *Enterobacterales* were the most common organism isolated from bloodstream, urinary tract and surgical site HAIs, *Pseudomonas aeruginosa* was the most common pathogen in respiratory tract HAIs.

Table 2. Microorganisms isolated.

Microorganism	2018/2019 cohort	2020 cohort	% change
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	82 (24.6%)	37 (21.6%)	-2,99
<i>Escherichia coli</i>	45 (13.5%)	26 (15.2%)	1.69
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41 (12.3%)	29 (16.9%)	4.65
<i>Staphylococcus aureus</i>	21 (6.3%)	15 (8.7%)	-1.90
<i>Enterobacter cloacae</i>	18 (5.4%)	6 (3.5%)	-2,45
<i>Proteus mirabilis</i>	14 (4.2%)	3 (1.7%)	-2.45
<i>Acinetobacter baumannii</i>	7 (2.1%)	3 (1.7%)	-0.35
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6 (1.8%)	4 (2.3%)	0.54
<i>Pseudomonas putida</i>	5 (1.5%)	2 (1.1%)	-0.33
<i>Morganella morganii</i>	5 (1.5%)	1 (0.5%)	-0.92
<i>Aeromonas hydrophila</i>	4 (1.2%)	1 (0.5%)	-0.62
<i>Serratia marcescens</i>	4 (1.2%)	3 (1.7%)	0.55
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4 (1.2%)	2 (1.1%)	-0.03
<i>Streptococcus mitis</i>	3 (0.9%)	0 (0.0%)	-0.90
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2 (0.6%)	0 (0.0%)	-0.60
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3 (0.9%)	1 (0.5%)	-0,32%
<i>Candida albicans</i>	2 (0.6%)	6 (3.5%)	2,91%
<i>Candida tropicalis</i>	1 (0.3%)	5 (2.9%)	2,62%
<i>Candida parapsilosis</i>	3 (0.9%)	2 (1.1%)	0,27%
<i>Candida glabrata</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Candida haemulonii</i>	0 (0.0%)	1 (0.5%)	0,58%
<i>Candida krusei</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Enterococcus faecalis</i>	2 (0.6%)	6 (3.5%)	2,91%
<i>Enterococcus faecium</i>	0 (0.0%)	2 (1.1%)	1,17%
<i>Proteus penneri</i>	2 (0.6%)	0 (0.0%)	-0,60%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Pantoea spp</i>	3 (0.9%)	0 (0.0%)	-0,90%
<i>Staphylococcus capitis</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Staphylococcus warneri</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Staphylococcus hominis</i>	0 (0.0%)	1 (0.5%)	0,58%
<i>Streptococcus anginosus</i>	0 (0.0%)	1 (0.5%)	0,58%
<i>Streptococcus sanguinis</i>	0 (0.0%)	1 (0.5%)	0,58%

<i>Streptococcus pseudoporcinus</i>	0 (0.0%)	1 (0.5%)	0,58%
<i>Aeromonas sobria</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Salmonella enterica arizonae</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Myroides spp</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 (0.3%)	0 (0.0%)	-0,30%
<i>Burkholderia cepacia</i>	0 (0.0%)	1 (0.5%)	0,58%
<i>Citrobacter koseri</i>	0 (0.0%)	1 (0.5%)	0,58%
<i>Citrobacter youngae</i>	0 (0.0%)	1 (0.5%)	0,58%
<i>Cupriavidus pauculus</i>	0 (0.0%)	1 (0.5%)	0,58%
Negativo	6 (1.8%)	1 (0.5%)	-1,22%
Sin Germen	38	7 (4.0%)	-7,32%

Given that *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* represent 58% of all cases identified as HAIs among the patients included in this study, we characterized the antimicrobial susceptibility patterns from the isolates obtained between 2018 and 2020 (**Figure 3**). During this period the percentage of extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* remained at approximately 37% and 45%, respectively. A progressive increase in resistance to meropenem was observed in *Klebsiella pneumoniae*, from 1.7% in 2018 to 17% in 2020.

Figure 3. Comparison of antimicrobial resistance over time

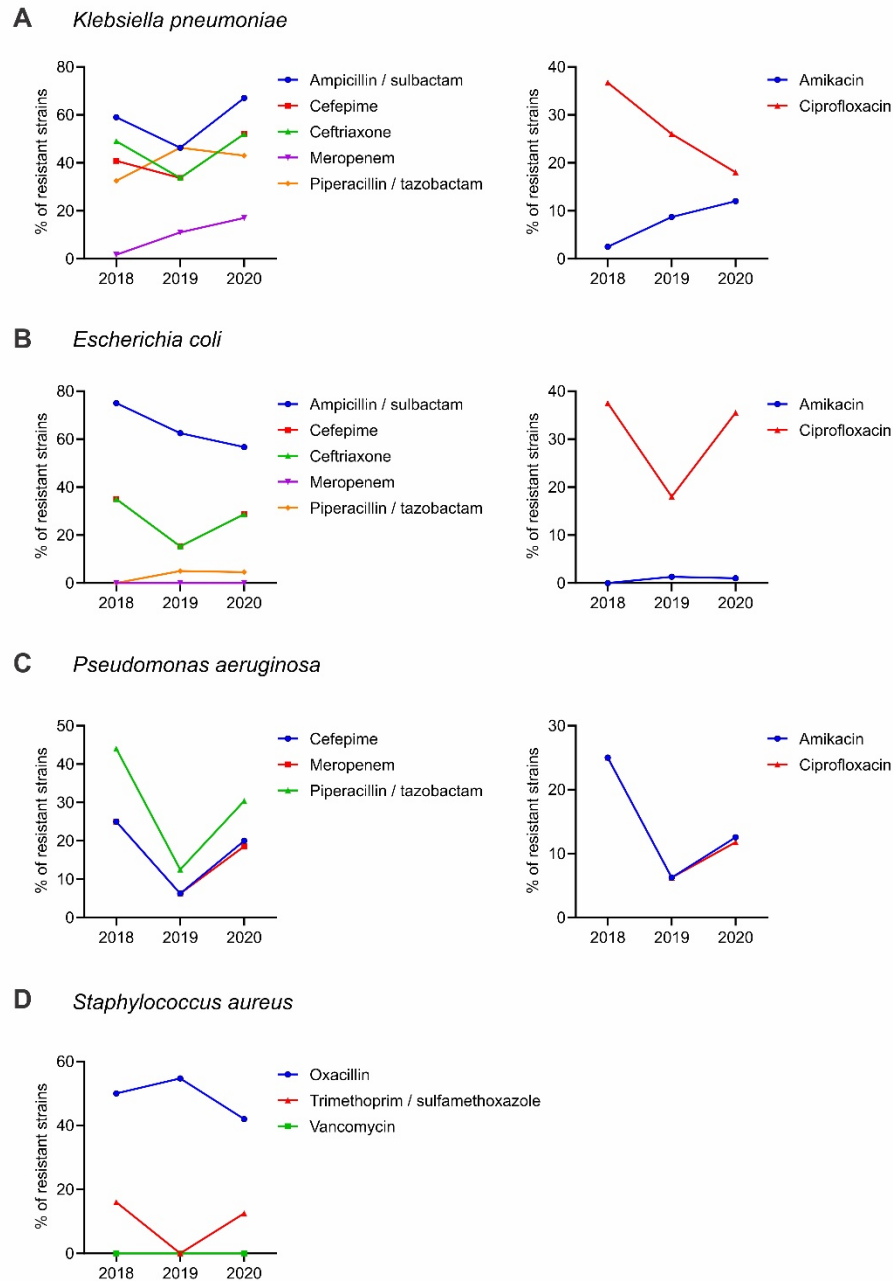


Table 3. Univariate analysis 30-day mortality (224 bacteremic events)

Variables	Alive (n=193) Dead (n=31)		p-Value
Years			
2018	30 (15.5%)	7 (22.6%)	0.080†
2019	70 (36.3%)	5 (16.1%)	
2020	93 (48.2%)	19 (61.3%)	
Gender			
Female	79 (40.9%)	12 (38.7%)	0.815‡
Masculine	114 (59.1%)	19 (61.3%)	
Population Group			
Pediatrics	69 (35.7%)	4 (12.9%)	0.012‡
Adult	124 (64.2%)	27 (87.1%)	
Age pediatric group , years mean [SD].	5,4 [3.8]	1.9 [1.3]	0.9205¥
Age adult group , years mean [SD].	52.7 [24.5]	61.5 [30.5]	0.8320¥
Comorbidities in adult	(n=124)	(n=27)	
Oncologic disease	64 (84.2%)	12 (18.7%)	0.6436‡
Coronary artery disease	18 (14.5%)	5 (18.5%)	0.070‡
Chronic lung disease	16 (12.9%)	3 (11.1%)	0.510‡
Hormonal disease	6 (4.8%)	2 (7.4%)	0.169‡
Chronic renal disease	20 (16.1%)	5 (18.5%)	0.834‡
Hypertension	52 (41.9%)	8 (29.6%)	0.657‡
Diabetes mellitus	25 (20.1%)	6 (22.2%)	0.275‡
Obesity	13 (10.5%)	3 (11.1%)	0.529‡
Psychiatric disorder	32 (25.8%)	11 (40.7%)	0.066‡
Comorbidities in Pediatrics	(n=69)	(n=4)	
Oncologic Disease	33 (47.8%)	3 (75.0%)	0.111‡
Gastrointestinal Disease	25 (36.2%)	1 (25.0%)	0.996‡
Genetic Disease	11 (15.9%)	1 (25.0%)	0.083‡
Cardiovascular Disease	3 (4.3%)	0 (0.0%)	-
Previous infectious diseases	10 (5.1%)	1 (3.2%)	0.063‡
Immune suppression all ages	102 (52.8%)	13 (41.9%)	0.259‡
Diagnostic SARS-CoV 2, year 2020 (n: 232)	11 (5.7%)	10 (27.0%)	<0.0001‡
Length of hospital stay , days mean [SD]	74.8 [85.5]	31.8 [23.0]	0.0002¥
Adequate empiric therapy	132 (68.3%)	19 (61.3%)	0.4335‡

SD: Standard Deviation; Hospital stay; was defined as the total number of days the patient was in the hospital until discharge; **Immune suppression:** Neutropenia, chemotherapy, malnutrition and HIV/AIDS.

Psychiatric disorder: Epilepsy, delirium, depression, schizophrenia, bipolar affective disorder, acute psychotic and schizophrenia.

†: determined by Fischer's exact test ‡: p value determined by Chi2 test; ¥: p value determined by Student's t test.

Bacteremia was the most common type of HAI. In the univariate analysis (see **Table 3**), statistical differences were observed between the living and dead of those who had had a previous infectious disease compared to those who had not had previous infections. In addition, patients diagnosed with SARS-CoV 2 showed statistical differences in mortality and hospital stay was short for patients who died of bacteremia and pediatric population.

DISCUSSION

In this study, we describe for the first time the overall incidence rate of healthcare-associated infections of HAI is 2.55 patients per 1000 days. This is the first report of the incidence rate of HAI in a 3th level hospital in the city of Bucaramanga, Santander (Colombia). In Latin America there is little data on the burden of HAI. However, some countries have made progress in the characterization of this problem, as described in the study of Prevalence of Adverse Events in Latin American Hospitals - IBEAS in which nosocomial infections or currently known as HAI was the most frequent event with 37% in agreement, the result for Colombia occupied the first place, followed by other events related to procedures and care.(115)

Our study revealed that bloodstream infections were the most frequent, accounting for 44% of the HAIs identified during the last 3 years; we observed that this frequency increases significantly in patients with immunosuppression or oncologic disease. As reported by other studies in Latin America.(116) The dynamics of nosocomial infection sites may change according to the use of new medical devices and the implementation of immunosuppressive therapies implemented by each hospital institution.(117)

The most common microorganisms for the different types of infections were Gram-negative bacilli (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*). In the case of Gram-positives it was *Staphylococcus aureus*. Similar data have been reported from other institutions of equal complexity where Gram-negative bacilli are the most common microorganisms associated with nosocomial infections. (118–120)

Another important finding was that 75.2% of patients with HAI had some comorbidities: arterial hypertension 34%, psychiatric disease 25%, diabetes 17%, chronic renal disease 13%, chronic pulmonary disease and coronary disease in 10% of the cases analyzed. Comorbidities being a considerable risk factor, which can contribute to long hospital stays, generating a negative impact on healthcare systems.(101)

As reported by several studies, bacteremia is associated with high mortality. In fact, 13/74 (18%), several studies have demonstrated similarly dismal outcomes in immunosuppressed or critically ill patients who develop sepsis, 1,14 including liver transplant patients with gram-negative sepsis. (119,121)

A comparison of antimicrobial resistance over time showed a significant increase in resistance to cephalosporins from 22% to 47% for *Enterobacteriaceae*. On the contrary, resistance to ciprofloxacin remained between 16% and 20% during the last 3 years; as for piperacillin tazobactam, there were no significant differences with a resistance between 7% and 8%. Contrary to other studies where the highest bacterial resistance is associated with cephalosporins and carbapenems.³³ The number of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in HAI increased from 7 reported for 2018 to 43 by 2020, this significant increase may be attributed possible outbreaks that occurred in the ICU, increased use of medical devices in patients with COVID-19 among others.

The MDR organisms comprised 15% of the total isolates, including BLEE, CRE and MDR *Pseudomonas* MDR infections. Overall, a significant increase in reported BLEE was observed by 2020. This can be attributed to the expansion of the hospital capacity installed by COVID-19, the reconversion of services was carried out, increasing the number of intensive care beds from 21 beds to 51 beds for adults and temporarily opening in the Special Registry of Health Providers - REPS, 17 beds for adult intensive care and 18 beds for adult intermediate care; with the consequent growth in human talent, equipment and biomedical devices.

The most commonly used empirical antibiotic in our institution was piperacillin/tazobactam, used in 40% of patients with HAIs; no significant increase in

resistance to this type of antibiotic was observed in our analysis. Similar data have been reported by other hospital institutions. (121) During the development of this study, information from both pediatric and adult populations was consolidated to perform a comprehensive and detailed analysis of all HAIs detected during the last 3 years in our institution.

It is important to mention that during the hospital stay, the causative agent was identified for 90% of all the detected HAIs together with the antimicrobial susceptibility profile, obtaining valuable information that allowed the treating physician to implement the appropriate antibiotic therapy. However, it is important to point out that a small percentage of the cultures performed could not identify the causal agent of the infection, a situation that may be associated with the fact that the International Hospital of Colombia is a reference health institution where a high number of patients are referred by other health institutions of lower complexity where patients have received empirical antibiotic treatment, which in some cases does not allow isolating and identifying the microorganism that is causing the infection for 100% of the cultures performed in the institution.

Urinary tract infections accounted for 28% to 35% of HAIs in ICU, general hospitalization and oncology services, 46% of HAIs being associated with bladder catheter use, making bladder catheter use a risk factor, as described in other studies. Recent studies have shown that the inadequate use of antibiotic prophylaxis in urinary tract infections outweighs the benefits and contributes to the increase of bacterial resistance. (28,122) For this reason it is only recommended to use antibiotics in symptomatic infections in catheterized patients and not to use prophylaxis after catheter change in the absence of symptoms of infection. (27)

Among the difficulties and limitations of the study, some stand out, such as the collection of all the relevant clinical information for the 504 patients with HAIs. A possible poor quality of some of the data collected in the clinical history may underestimate important information for the analysis. However, all the information collected was done together with

the medical team to clarify any doubts or uncertainties that arose in the collection of these data.

Hospital-acquired infections contribute to prolonged hospital stays and present a substantial economic burden to healthcare systems. Studies show that middle-income countries experience a higher burden of HAIs compared to developed countries, so implementing measures to prevent HAIs in middle-income countries appears to be a high-value information resource that can contribute to improved HAI control and surveillance. In addition, it can contribute to improve the standardization of reporting for the control of these infections. (63,123)

It is important to highlight the work performed by the Hospital Infection Committee, which collects, updates, and constantly informs all health personnel about the behavior of HAIs in this hospital. Simultaneously, it takes the measures required for any area of the hospital and highlights the importance of prevention and surveillance of these infections in the health system.

HAIs are not exclusive to any one hospital area, but some factors that contribute to the risk of contracting them have been described, whether due to long hospital stays, immunosuppression, surgical interventions, or the use of invasive medical devices, among others. For this reason, it is recommended that antimicrobial stewardship programs be implemented to effectively reduce the inappropriate use of antibiotics, especially in ICUs with the highest number of MDRO. (19,124,125)

Conclusions

In conclusion, bacteremia was the most frequent infection in the total number of HAIs. The most common microorganisms were Gram-negative bacteria; no differences were found between the type of infection or hospital area analyzed. Resistance to piperacillin/tazobactam increased substantially in the last year for both *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas*, as did oxacillin resistance for *Staphylococcus aureus*. Despite the increase in antimicrobial resistance, most patients received adequate empirical antimicrobial therapy, a significant increase in the number of respiratory infections identified in the ICU was observed for the 2020 cohort (during COVID-19), due to the high number of patients treated in the hospital for SARS-CoV-2. It is suggested that empirical treatment regimens be based on specific data from ongoing surveillance, analysis, and interpretation of HAIs in each hospital. To implement and evaluate new strategies for HAIs prevention.

Acknowledgments

To the Committee of Hospital Infections of the International Hospital of Colombia. To the collaborators of the Microbiology Laboratory Pilar García and Karyn Ortega.

Support

No financial support was provided relevant to this article.

Conflicts of interest

All authors report no conflicts of interest relevant to this article.

BIBLIOGRAPHY

1. Yamada M, Saier MH. Physical and genetic characterization of the glucitol operon in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* [Internet]. 1987 [cited 2022 May 21];169(7):2990. Available from: [/pmc/articles/PMC212338/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2811118/)
2. Weinstein EA, Ordonez AA, Demarco VP, Murawski AM, Pokkali S, Macdonald EM, et al. Imaging Enterobacteriaceae infection in vivo with F-fluorodeoxysorbitol positron emission tomography. *Science Translational Medicine*. 2014;6(259):1–9.
3. Zhu W, Yao S, Xing H, Zhang H, Tai Y chuan, Zhang Y, et al. Biodistribution and Radiation Dosimetry of the Enterobacteriaceae -Specific Imaging Probe [¹⁸F] Fluorodeoxysorbitol Determined by PET / CT in Healthy Human Volunteers. 2016;(March):782–8.
4. Ordonez AA, Wintaco LM, Mota F, Restrepo AF, Ruiz-Bedoya CA, Reyes CF, et al. Imaging Enterobacteriales infections in patients using pathogen-specific positron emission tomography. *Science Translational Medicine* [Internet]. 2021 Apr 14 [cited 2021 Oct 12];13(589). Available from: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/scitranslmed.abe9805>
5. Adeolu M, Alnajjar S, Naushad S, Gupta RS. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: Proposal for enterobacteriales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2022 Apr 17];66(12):5575–99. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.001485>
6. Brenner DJ, Farmer JJ. Enterobacteriaceae. *Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* [Internet]. 2015 Sep 14 [cited 2022 Apr 17];1–24. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/9781118960608.fbm00222>
7. Oren A, Garrity GM. Notification that new names of prokaryotes, new combinations and new taxonomic opinions have appeared in volume 66, part 12, of the IJSEM. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2017 Apr 1;67(3):525–8.
8. Octavia S, Lan R. The Family <Emphasis Type="Italic">Enterobacteriaceae</Emphasis>. *The Prokaryotes: Gammaproteobacteria* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2022 Apr 18];9783642389221:225–86. Available from: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-642-38922-1_167
9. Preston Church LW. Enterobacteriaceae. In: *Clinical Infectious Disease*. 2010.
10. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2010 [cited 2022 May 6];2(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20452953/>
11. John E. Bennett & Raphael Dolin & Martin J. Blaser. Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases - 9781455748013 | US Elsevier Health Bookshop [Internet]. Elsevier Inc. 2010 [cited 2018 Oct 14]. p. 2815–33. Available from: <https://www.us.elsevierhealth.com/mandell-douglas-and-bennetts-principles-and-practice-of-infectious-diseases-9781455748013.html>

12. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2005 Oct [cited 2022 May 6];18(4):657–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16223952/>
13. Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* [Internet]. 1998 Mar 14 [cited 2022 May 6];351(9105):797–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9519952/>
14. Doi Y, Paterson DL. Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Semin Respir Crit Care Med* [Internet]. 2015 [cited 2022 May 5];36(1):74. Available from: </pmc/articles/PMC4470611/>
15. Hansen GT. Continuous Evolution: Perspective on the Epidemiology of Carbapenemase Resistance Among Enterobacterales and Other Gram-Negative Bacteria. *Infectious Diseases and Therapy* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2022 Apr 17];10(1):75. Available from: </pmc/articles/PMC7954928/>
16. Thomson KS. Extended-spectrum-beta-lactamase, AmpC, and Carbapenemase issues. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2010 Apr 1 [cited 2022 May 6];48(4):1019–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20181902/>
17. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Vol. 11, *Clinical Microbiology Reviews*. American Society for Microbiology (ASM); 1998. p. 589–603.
18. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Medicine* [Internet]. 2002 Feb 4 [cited 2018 Oct 14];28(2):108–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11907653>
19. Voidazan S, Albu S, Toth R, Grigorescu B, Rachita A, Moldovan I. Healthcare Associated Infections-A New Pathology in Medical Practice? *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2020;17:760. Available from: www.mdpi.com/journal/ijerph
20. Ibrahim Abudakar, Ted Cohen, Helen R. Stagg LCR. *Infectious Disease Epidemiology* - Google Books [Internet]. OXFORD UNIVERSITY PRESS. 2016 [cited 2018 Oct 14]. p. 1–371. Available from: [https://books.google.com.co/books?id=0N8mDAAQBAJ&pg=PA304&lpg=PA304&dq=Clostridium+difficile+\(12.1%25\),+Staphylococcus+aureus+\(10.7%25\)+y+Pseudomona+aeruginosa&source=bl&ots=XuHmvmvF8ff&sig=agVCmaw32OE3RxxhPPK0jp09584U&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiTk6G5ioreA](https://books.google.com.co/books?id=0N8mDAAQBAJ&pg=PA304&lpg=PA304&dq=Clostridium+difficile+(12.1%25),+Staphylococcus+aureus+(10.7%25)+y+Pseudomona+aeruginosa&source=bl&ots=XuHmvmvF8ff&sig=agVCmaw32OE3RxxhPPK0jp09584U&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiTk6G5ioreA)
21. Byndloss MX, Olsan EE, Rivera-Chávez F, Tiffany CR, Cevallos SA, Lokken KL, et al. Microbiota-activated PPAR- γ signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion. *Science* (1979). 2017;
22. Rogers AWL, Tsolis RM, Bäumler AJ. Salmonella versus the Microbiome. *Microbiol Mol Biol Rev* [Internet]. 2020 Feb 17 [cited 2022 May 7];85(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33361269/>
23. Jacobson A, Lam L, Rajendram M, Tamburini F, Honeycutt J, Pham T, et al. A Gut Commensal-Produced Metabolite Mediates Colonization Resistance to Salmonella Infection. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2018 Aug 8 [cited 2022 May 7];24(2):296-307.e7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30057174/>
24. Stecher B. The Roles of Inflammation, Nutrient Availability and the Commensal Microbiota in Enteric Pathogen Infection. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2015 Jun 18 [cited 2022 May 7];3(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26185088/>

25. Bakaletz LO. Viral-bacterial co-infections in the respiratory tract. *Curr Opin Microbiol* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2022 May 7];35:30–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27940028/>
26. Cappelletty D. Microbiology of bacterial respiratory infections. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 1998 [cited 2022 May 7];17(8 Suppl). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9727651/>
27. Waller TA, Pantin SAL, Yenior AL, Pujalte GGA. Urinary Tract Infection Antibiotic Resistance in the United States [Internet]. Vol. 45, Primary Care - Clinics in Office Practice. W.B. Saunders; 2018 [cited 2021 Apr 19]. p. 455–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30115334/>
28. Langford BJ, Brown KA, Diong C, Marchand-Austin A, Adomako K, Saedi A, et al. The Benefits and Harms of Antibiotic Prophylaxis for Urinary Tract Infection in Older Adults. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2021 Feb 17 [cited 2021 Apr 18]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33595621/>
29. Karchmer AW. Nosocomial bloodstream infections: organisms, risk factors, and implications. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2000 [cited 2022 May 7];31 Suppl 4(SUPPL. 4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11017863/>
30. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1999 [cited 2022 May 7];29(2):239–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10476719/>
31. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2004;39(3):309–17. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/421946>
32. Talbot GH. The antibiotic development pipeline for multidrug-resistant gram-negative bacilli: current and future landscapes. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2022 May 7];31 Suppl 1(S1):S55–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20929372/>
33. Maria R. Antibiotic resistance : What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria ? Antibiotikaresistenz : Was ist so besonders an den Gram-negativen. *GMS Hygiene and Infection Control*. 2017;12:1–24.
34. Iovleva A, Doi Y. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. Vol. 37, Clinics in Laboratory Medicine. W.B. Saunders; 2017. p. 303–15.
35. Pérez-Vázquez A, Fariñas MC, Garcia-Palomo JD, Bernal JM, Revuelta JM, González-Macías J. Evaluation of the Duke Criteria in 93 Episodes of Prosthetic Valve Endocarditis: Could Sensitivity Be Improved? *Archives of Internal Medicine* [Internet]. 2000 Apr 24 [cited 2022 May 7];160(8):1185–91. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/fullarticle/485290>
36. Lopardo HA, Garrahan JP, Profesor ", Predari SC. MANUAL DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DE LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA VOLUMEN I Bacterias de Importancia Clínica.
37. Martínez-Martínez L, Calvo J. [The growing problem of antibiotic resistance in clinically relevant Gram-negative bacteria: current situation]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* [Internet]. 2010 Sep [cited 2022 May 7];28 Suppl 2(SUPPL. 2):25–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21130927/>

38. Prioridad G. Lista OMS de Antimicrobianos de Importancia Crítica para la Medicina Humana. Organización mundial de la salud. 2005;
39. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection : the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [Internet]. 2011 Jul 27 [cited 2022 May 7];18(3):268–81. Available from: <https://europepmc.org/article/med/21793988>
40. Thomson KS. Extended-Spectrum- β -Lactamase, AmpC, and Carbapenemase Issues. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2010 Apr 1 [cited 2022 May 7];48(4):1019. Available from: [/pmc/articles/PMC2849556/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20802331/)
41. Logan LK, Weinstein RA. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae : The Impact and Evolution of a Global Menace. *The journal of infectious diseases*. 2017;2015(Suppl 1):1–9.
42. Ho J, Tambyah PA, Paterson DL. Multiresistant Gram-negative infections: a global perspective. *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. 2010 Dec [cited 2022 May 7];23(6):546–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20802331/>
43. Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of Carbapenem-resistant enterobacteriaceae: The impact and evolution of a global menace. *Journal of Infectious Diseases*. 2017;2015(1).
44. Klevens RM, Edwards JR, Richards CL, Horan TC, Gaynes RP, Pollock DA, et al. Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. Hospitals, 2002. *Public Health Reports* [Internet]. 2007 [cited 2021 Apr 15];122(2):160–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17357358/>
45. Informe elaborado por: Unidad de IAAS del Ministerio de Salud.
46. Esparza G, Esparza G. Bacterias Gram negativas resistentes a carbapenémicos en Colombia: un desafío continuo al sistema de salud. *Infectio* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 7];24(2):55–6. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000200055&lng=en&nrm=iso&tlng=es
47. Brink AJ. Epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative infections globally. *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. 2019 [cited 2022 May 29];32(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31567571/>
48. 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* [Internet]. 2011 Sep [cited 2022 May 7];35(5):736–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21303394/>
49. Talbot GH. The antibiotic development pipeline for multidrug-resistant gram-negative bacilli: current and future landscapes. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2022 May 8];31 Suppl 1(S1):S55–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20929372/>
50. Esparza G, Esparza G. Bacterias Gram negativas resistentes a carbapenémicos en Colombia: un desafío continuo al sistema de salud. *Infectio* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 8];24(2):55–6. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000200055&lng=en&nrm=iso&tlng=es

51. Germán Esparza*, Beatriz Arizab, Ana María Bedoyac, Ingrid Bustosd, Claudia Rocío Castañeda-Ramireze, Elsa De la Cadenaf, María Nilse González de Ariasg, Liliana Guerrero Mónica, Aura Lucia Leali, Adriana Marínj, Marta Patricia Meléndezk, Clara Luz Ric MVVC de RB e IACIN. Estrategias para la implementación y reporte de los puntos de corte CLSI vigentes y pruebas fenotípicas confirmatorias para BLEE y carbapenemasas en bacilos Gram negativos en laboratorios clínicos de Colombia [Internet]. Infectio. 2013 [cited 2022 May 8]. p. 5–9. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922013000200006
52. Esparza G, Esparza G. Bacterias Gram negativas resistentes a carbapenemicos en Colombia: un desafío continuo al sistema de salud. Infectio [Internet]. 2020 [cited 2022 May 8];24(2):55–6. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000200055&lng=en&nrm=iso&tlng=es
53. Olmos AF, Fuente CG de la, Nieto JAS, Ramos SV. Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón. In: Procedimientos en Microbiología Clínica. 2010. p. 1–52.
54. Ohtaki H, Takahashi A, Niwa A, Yonetamari J, Nakayama A, Kuchibiro T, et al. Evaluation of presumptive identification of Enterobacterales using CHROMagar Orientation medium and rapid biochemical tests. J Clin Lab Anal [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2022 May 8];34(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32594571/>
55. York MK. Highlights of CLSI Document – Abbreviated Identification of Bacteria and Yeast - M35-A2, Second Edition. Clinical Microbiology Newsletter. 2010 May 1;32(9):65–72.
56. Exner M, Bhattacharya S, Christiansen B. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? multiresistenten Bakterien?
57. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Retamar P, Picón E, Pascual Á, Group the ESBLE de I en PI de E de IH. β -Lactam/ β -Lactam Inhibitor Combinations for the Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum β -Lactamase–Producing *Escherichia coli*: A Post Hoc Analysis of Prospective Cohorts. Clinical Infectious Diseases [Internet]. 2012 Jan 15 [cited 2022 May 7];54(2):167–74. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article/54/2/167/469779>
58. Bush K. Past and present perspectives on β -lactamases. Vol. 62, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology; 2018.
59. Rodríguez-Baño J, Pascual A. Clinical significance of extended-spectrum β -lactamases. <https://doi.org/10.1586/1478721065671> [Internet]. 2014 [cited 2022 May 8];6(5):671–83. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/14787210.6.5.671>
60. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2005 Oct [cited 2022 May 8];18(4):657–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16223952/>
61. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, Hernández JR, Cisneros JM, Peña C, et al. Risk Factors and Prognosis of Nosocomial Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*. Journal of Clinical Microbiology [Internet]. 2010 [cited 2022 May 8];48(5):1726. Available from: </pmc/articles/PMC2863889/>
62. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, Hernández JR, Cisneros JM, Peña C, et al. Risk Factors and Prognosis of Nosocomial Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*. Journal of Clinical Microbiology

- [Internet]. 2010 [cited 2022 May 8];48(5):1726. Available from: [/pmc/articles/PMC2863889/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31762788/)
63. Gamalathge PU, Kularatna S, Carter HE, Senanayake S, Graves N. Cost-effectiveness of interventions to reduce the risk of healthcare-acquired infections in middle-income countries: A systematic review [Internet]. Vol. 20, Journal of Infection Prevention. SAGE Publications Ltd; 2019 [cited 2021 Apr 19]. p. 266–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31762788/>
 64. Tomography PE, Tomography C. Positron Emission Tomography - Computed Tomography (PET / CT). Radiological Society of North America, Inc. (RSNA). 2017.
 65. Hess S, Hansson SH, Pedersen KT, Basu S, Høilund-Carlsen PF. FDG-PET/CT in Infectious and Inflammatory Diseases. PET Clin [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2022 May 22];9(4):497–519. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26050949/>
 66. Granados U, Fuster D, Pericas JM, Llopis JL, Ninot S, Quintana E, et al. Diagnostic Accuracy of 18F-FDG PET/CT in Infective Endocarditis and Implantable Cardiac Electronic Device Infection: A Cross-Sectional Study. Journal of Nuclear Medicine [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2018 Oct 14];57(11):1726–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27261514>
 67. Higgins LJ, Pomper MG. The Evolution of Imaging in Cancer: Current State and Future Challenges. Seminars in Oncology. 2011 Feb;38(1):3–15.
 68. Glaudemans AWJM, Vries EFJ De, Galli F, Dierckx RAJO, Slart RHJA, Signore A. The Use of 18 F-FDG-PET / CT for Diagnosis and Treatment Monitoring of Inflammatory and Infectious Diseases. Clinical and Developmental Immunology. 2013;2013.
 69. Li ZB, Wu Z, Cao Q, Dick DW, Tseng JR, Gambhir SS, et al. The Synthesis of 18F-FDS and Its Potential Application in Molecular Imaging. Molecular Imaging and Biology. 2008;
 70. Li Z, Conti PS. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. Advanced Drug Delivery Reviews. 2010 Aug 30;62(11):1031–51.
 71. Saleem A, Aboagye EO, Matthews JC, Price PM. Plasma pharmacokinetic evaluation of cytotoxic agents radiolabelled with positron emitting radioisotopes. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 2008;
 72. Vaidyanathan S, Patel CN, Scarsbrook AF, Chowdhury FU. FDG PET/CT in infection and inflammation--current and emerging clinical applications. Clin Radiol [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2022 May 22];70(7):787–800. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25917543/>
 73. Liberti M v., Locasale JW. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? Trends Biochem Sci [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2022 May 22];41(3):211. Available from: [/pmc/articles/PMC4783224/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25917543/)
 74. Jamar F, Buscombe J, Chiti A, Christian PE, Delbeke D, Donohoe KJ, et al. EANM/SNMMI guideline for 18F-FDG use in inflammation and infection. J Nucl Med [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2022 May 22];54(4):647–58. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23359660/>
 75. Chen RY, Dodd LE, Lee M, Paripati P, Hammoud DA, Mountz JM, et al. PET/CT imaging correlates with treatment outcome in patients with multidrug-resistant tuberculosis. Sci Transl Med [Internet]. 2014 Dec 3 [cited 2022 May 22];6(265). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25473034/>

76. Diagnostic performance of Fluorine-18-Fluorodeoxyglucose positron emission tomography for the diagnosis of osteomyelitis related to diabetic foot: a systematic review and a meta-analysis - Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE): Quality-assessed Reviews - NCBI Bookshelf [Internet]. [cited 2022 May 22]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK184623/>
77. Mutch CA, Ordonez AA, Qin H, Parker M, Bambarger LE, Villanueva-Meyer JE, et al. Para-Aminobenzoic Acid: A Positron Emission Tomography Tracer Targeting Bacteria-Specific Metabolism. *ACS Infectious Diseases*. 2018;
78. Ordonez AA, Weinstein EA, Bambarger LE, Saini V, Chang YS, DeMarco VP, et al. A systematic approach for developing bacteria-specific imaging tracers. *Journal of Nuclear Medicine*. 2017;58(1):144–50.
79. Yao S, Xing H, Zhu W, Wu Z, Zhang Y, Ma Y, et al. F-FDS and First-in-Human Evaluation ☆. *Nuclear Medicine and Biology* [Internet]. 2016;43(3):206–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2015.11.008>
80. Ordonez AA, Jain SK. Pathogen-Specific Bacterial Imaging in. *Seminars in Nuclear Medicine* [Internet]. 2017; Available from: <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2017.11.003>
81. Zhu W, Yao S, Xing H, Zhang H, Tai Y chuan, Zhang Y, et al. Biodistribution and Radiation Dosimetry of the Enterobacteriaceae-Specific Imaging Probe [18F]Fluorodeoxysorbitol Determined by PET/CT in Healthy Human Volunteers. *Molecular Imaging and Biology*. 2016;
82. Ting R, Harwig C, Auf Dem Keller U, McCormick S, Austin P, Overall CM, et al. Toward [18F]-labeled aryltrifluoroborate radiotracers: in vivo positron emission tomography imaging of stable aryltrifluoroborate clearance in mice. *J Am Chem Soc* [Internet]. 2008 Sep 10 [cited 2022 May 30];130(36):12045–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18700764/>
83. Welling MM, Hensbergen AW, Bunschoten A, Velders AH, Roestenberg M, van Leeuwen FWB. An update on radiotracer development for molecular imaging of bacterial infections. Vol. 7, *Clinical and Translational Imaging*. 2019.
84. Bartholomä MD, Louie AS, Valliant JF, Zubietta J. Technetium and gallium derived radiopharmaceuticals: comparing and contrasting the chemistry of two important radiometals for the molecular imaging era. *Chem Rev* [Internet]. 2010 May 12 [cited 2022 May 30];110(5):2903–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20415476/>
85. Tsopelas C. Radiotracers used for the scintigraphic detection of infection and inflammation. *ScientificWorldJournal* [Internet]. 2015 [cited 2022 May 30];2015. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25741532/>
86. Jain SK. Imaging infections: From bench to bedside. *Imaging Infections: From Bench to Bedside*. 2017 May 25;1–261.
87. Kumar V, K. Boddeti D, G. Evans S, Angelides S. (68)Ga-Citrate-PET for diagnostic imaging of infection in rats and for intra-abdominal infection in a patient. *Curr Radiopharm* [Internet]. 2012 Dec 20 [cited 2022 May 30];5(1):71–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22074481/>
88. Palestro CJ, Love C, Tronco GG, Tomas MB, Rini JN. Combined labeled leukocyte and technetium 99m sulfur colloid bone marrow imaging for diagnosing musculoskeletal infection. *Radiographics* [Internet]. 2006 Jun [cited 2022 May 30];26(3):859–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16702459/>

89. Kumar V, Boddeti DK. 68Ga-Radiopharmaceuticals for PET imaging of infection and inflammation. *Recent Results in Cancer Research*. 2013;194:189–219.
90. (22) (PDF) A consensus protocol for white blood cells labelling with technetium-99m hexamethylpropylene amine oxime. International Society of Radiolabeled Blood Elements (ISORBE) [Internet]. [cited 2022 May 30]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/13621492_A_consensus_protocol_for_white_blood_cells_labelling_with_techneium-99m_hexamethylpropylene_amine_oxime_International_Society_of_Radiolabeled_Blood_Elements_ISORBE
91. Palestro CJ. Labeled Leukocyte Imaging: Dawn of an Era. *J Nucl Med* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2022 May 30];61(Suppl 2):57S-58S. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33293451/>
92. Palestro CJ. Labeled Leukocyte Imaging: Dawn of an Era (perspective on “Indium-111-Labeled Autologous Leukocytes in Man” *J Nucl Med*. 1977;18:1014–1021). *Journal of Nuclear Medicine* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2022 May 30];61(Supplement 2):57S-65S. Available from: https://jnm.snmjournals.org/content/61/Supplement_2/57S
93. Glaudemans AWJM, Galli F, Pacilio M, Signore A. Leukocyte and bacteria imaging in prosthetic joint infection. *Eur Cell Mater* [Internet]. 2013 [cited 2022 May 30];25:61–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23325539/>
94. Langer O, Brunner M, Zeitlinger M, Ziegler S, Müller U, Dobrozemsky G, et al. In vitro and in vivo evaluation of [18F]ciprofloxacin for the imaging of bacterial infections with PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* [Internet]. 2005 Feb [cited 2022 May 30];32(2):143–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15690222/>
95. Gustafsson S, Eriksson J, Syvänen S, Eriksson O, Hammarlund-Udenaes M, Antoni G. Combined PET and microdialysis for in vivo estimation of drug blood-brain barrier transport and brain unbound concentrations. *Neuroimage*. 2017 Jul 15;155:177–86.
96. Synthesis of fluorine-18-labeled biotin derivatives: biodistribution and infection localization - PubMed [Internet]. [cited 2022 May 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7931672/>
97. Assadi M, Ostovar A, Vahdat K, Nabipour I, Javadi H, Eftekhari M. A pooled analysis of diagnostic value of (99m)Tc-ubiquicidin (UBI) scintigraphy in detection of an infectious process. *Clin Nucl Med* [Internet]. 2013 Jun 1 [cited 2022 May 30];38(6):413–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23652406/>
98. Vaidyanathan S, Patel CN, Scarsbrook AF, Chowdhury FU. FDG PET/CT in infection and inflammation--current and emerging clinical applications. *Clin Radiol* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2022 May 30];70(7):787–800. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25917543/>
99. Mota F, Ordonez AA, Firth G, Ruiz-Bedoya CA, Ma MT, Jain SK. Radiotracer Development for Bacterial Imaging. Vol. 63, *Journal of Medicinal Chemistry*. American Chemical Society; 2020. p. 1964–77.
100. Yu S. Review of 18 F-FDG synthesis and quality control. *Biomedical Imaging and Intervention Journal*. 2006;2(4):1–11.
101. Otero ML, Menezes RC, Ferreira IBB, Issa FL, Agareno G, Carmo TA, et al. Factors associated with mortality in critically ill patients diagnosed with hospital acquired infections. *Infection and Drug Resistance* [Internet]. 2020 [cited 2021 Jun 12];13:2811–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32848430/>

102. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. 2014. 1–20 p.
103. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2014 Mar 27 [cited 2021 Jun 12];370(13):1198–208. Available from: [/pmc/articles/PMC4648343/](http://pmc/articles/PMC4648343/)
104. Chiang CH, Pan SC, Yang TS, Matsuda K, Kim H Bin, Choi YH, et al. Healthcare-associated infections in intensive care units in Taiwan, South Korea, and Japan: Recent trends based on national surveillance reports. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2018;7(1):1–12.
105. Guidelines on Core Components of Infection Prevention and Control Programmes at the National and Acute Health Care Facility Level [Internet]. 2016 [cited 2021 Jun 12]. Available from: <http://apps.who.int/bookorders>.
106. Allegranzi B, Nejad SB, Combescure C, Graafmans W, Attar H, Donaldson L, et al. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: Systematic review and meta-analysis. *The Lancet*. 2011;377(9761).
107. Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2008 [2006 data] [Internet]. 2008 [cited 2021 Apr 16]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/annual-epidemiological-report-communicable-diseases-europe-2008-2006-data>
108. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *New England Journal of Medicine*. 2014;
109. Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Infectious Disease Clinics of North America*. 1997;11(2):479–96.
110. O’Grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2011 May 1 [cited 2021 Jun 13];52(9):162–93. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article/52/9/e162/319981>
111. Kumar G, Adams A, Herrera M, Rojas ER, Singh V, Sakhuja A, et al. Predictors and outcomes of healthcare-associated infections in COVID-19 patients. *International Journal of Infectious Diseases*. 2021 Mar 1;104:287–92.
112. 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 Jun [cited 2022 May 4];36(5):309–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18538699/>
113. World Health Organization. Prevention of hospital-acquired infections : a practical guide / editors [Internet]. 2nd editio. G. Duce, Fondation Hygie, Geneva S, J. Fabry, Université Claude-Bernard, Lyon F, L. Nicolle, University of Manitoba, Winnipeg C, editors. World Health Organization. Geneva, Switzerland; 2002 [cited 2022 May 4]. 64 p. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67350>
114. Stelling JM, O’Brien TF. Surveillance of antimicrobial resistance: the WHONET program. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1997 [cited 2022 May 4];24 Suppl 1(1 SUPPL.). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8994799/>

115. Diseño del estudio IBEAS: prevalencia de efectos adversos en hospitales de Latinoamérica - Dialnet [Internet]. [cited 2021 Jul 9]. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3668455>
116. Luna CM, Rodriguez-Noriega E, Bavestrello L, Guzmán-Blanco M. Gram-negative infections in adult intensive care units of latin america and the caribbean. *Critical Care Research and Practice*. 2014.
117. Guidelines on Core Components of Infection Prevention and Control Programmes at the National and Acute Health Care Facility Level [Internet]. 2016 [cited 2021 Jun 12]. Available from: <http://apps.who.int/bookorders>.
118. Subbalakshmi E. Surveillance of Hospital Acquired Infection from Frequently Handled Surfaces in a Tertiary Care Teaching Hospital. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2018;7(2).
119. Cortes JA, Leal AL, Montañez AM, Buitrago G, Castillo JS, Guzman L. Frequency of microorganisms isolated in patients with bacteremia in intensive care units in Colombia and their resistance profiles. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2013;17(3):346–52.
120. Leal AL, Arturo C, Jorge Á, Cortes María A, Ovalle V. Boletín informativo GREBO. 2017 [cited 2018 Oct 14]; Available from: www.grebo.org
121. Sligl WI, Dragan T, Smith SW. Nosocomial Gram-negative bacteremia in intensive care: Epidemiology, antimicrobial susceptibilities, and outcomes. *International Journal of Infectious Diseases*. 2015;
122. Costelloe C, Metcalfe C, Lovering A, Mant D, Hay AD. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: Systematic review and meta-analysis. Vol. 340, *BMJ (Online)*. BMJ; 2010. p. 1120.
123. E Z, D H, O T, C F, P S, CK Y, et al. Health care-associated infections: a meta-analysis of costs and financial impact on the US health care system. *JAMA Intern Med* [Internet]. 2013 Dec 9 [cited 2021 Jul 9];173(22):2039–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23999949/>
124. Hurford A, Morris AM, Fisman DN, Wu J. Linking antimicrobial prescribing to antimicrobial resistance in the ICU: Before and after an antimicrobial stewardship program. *Epidemics*. 2012 Dec;4(4):203–10.
125. Katsios CM, Burry L, Nelson S, Jivraj T, Lapinsky SE, Wax RS, et al. An antimicrobial stewardship program improves antimicrobial treatment by culture site and the quality of antimicrobial prescribing in critically ill patients. *Critical Care*. 2012 Nov 5;16(6).

Supplementary Materials

Supplementary Table 1. Description of the 2020 cohort

	With COVID-19	Without COVID-19	p-Value
Patients	58	40	-
Observation time, person-days	1,927	2322	-
Gender (female)	12 (20.6%)	19 (47.5%)	0.0051‡
Age, years (mean ± SD)	60.7 ± 14.5	48.6 (± 23.8)	0.0024
Pediatric patients (<18 years)	1 (1.7%)	14 (35%)	< 0.0001‡
Age of pediatric patients, (mean ± SD)	4.0 (± 0.0)	5.8 (± 5.7)	-
Age of adult patients, (mean ± SD)	61.7 ± 12.5	52.8 (± 17.2)	0.0038
Coexisting conditions			
Coronary heart disease	5 (8.6%)	4 (10%)	0.8144‡
Chronic lung disease	14 (24.1%)	8 (20%)	0.6342‡
Chronic kidney disease	20 (34.4%)	6 (15%)	0.0333‡
Hypertension	30 (51.7%)	13 (32.5%)	0.0611‡
Diabetes mellitus	20 (34.4%)	7 (17.5%)	0.0669‡
Obesity	22 (37.9%)	1 (2.5%)	< 0.0001‡
Psychiatric disorder	43 (74.1%)	14 (35%)	0.6103‡
Immunosuppression	4 (6.89%)	19 (47.5%)	<0.0084‡
Cancer	2 (3.4%)	12 (30%)	<0.0041‡
Infection site			
Bloodstream	18 (31.0%)	23 (57.5%)	0.0093‡
Urinary tract	18 (31.0%)	12 (30%)	0.9163‡
Surgical site	1 (1.7%)	3 (7.5%)	0.1552‡
Respiratory tract	21 (36.2%)	3 (7.5%)	0.0012‡
Length of hospital stay (days), median (IQ)	23 (20)	32 (36)	-
Admission to ICU	50 (86.2%)	14 (35%)	<0.0198‡
Central venous catheter	14 (24.1%)	9 (22.5%)	0.9300‡
Urinary catheter	15 (25.8%)	8 (20%)	0.7676‡
Invasive ventilation	16 (27.5%)	3 (7.5%)	0.0701‡
Mortality	37 (63.7%)	5 (12.5%)	< 0.0001‡
Mortality rate (95% CI) per 1000 patient-days	1.92 (1.37-2.61)	2.15 (0.78-4.77)	-
30-day mortality in patients with bacteremia	10 (17.2%)	4 (10%)	0.3189‡
Re-admission	2 (3.4%)	2 (5%)	0.6945‡

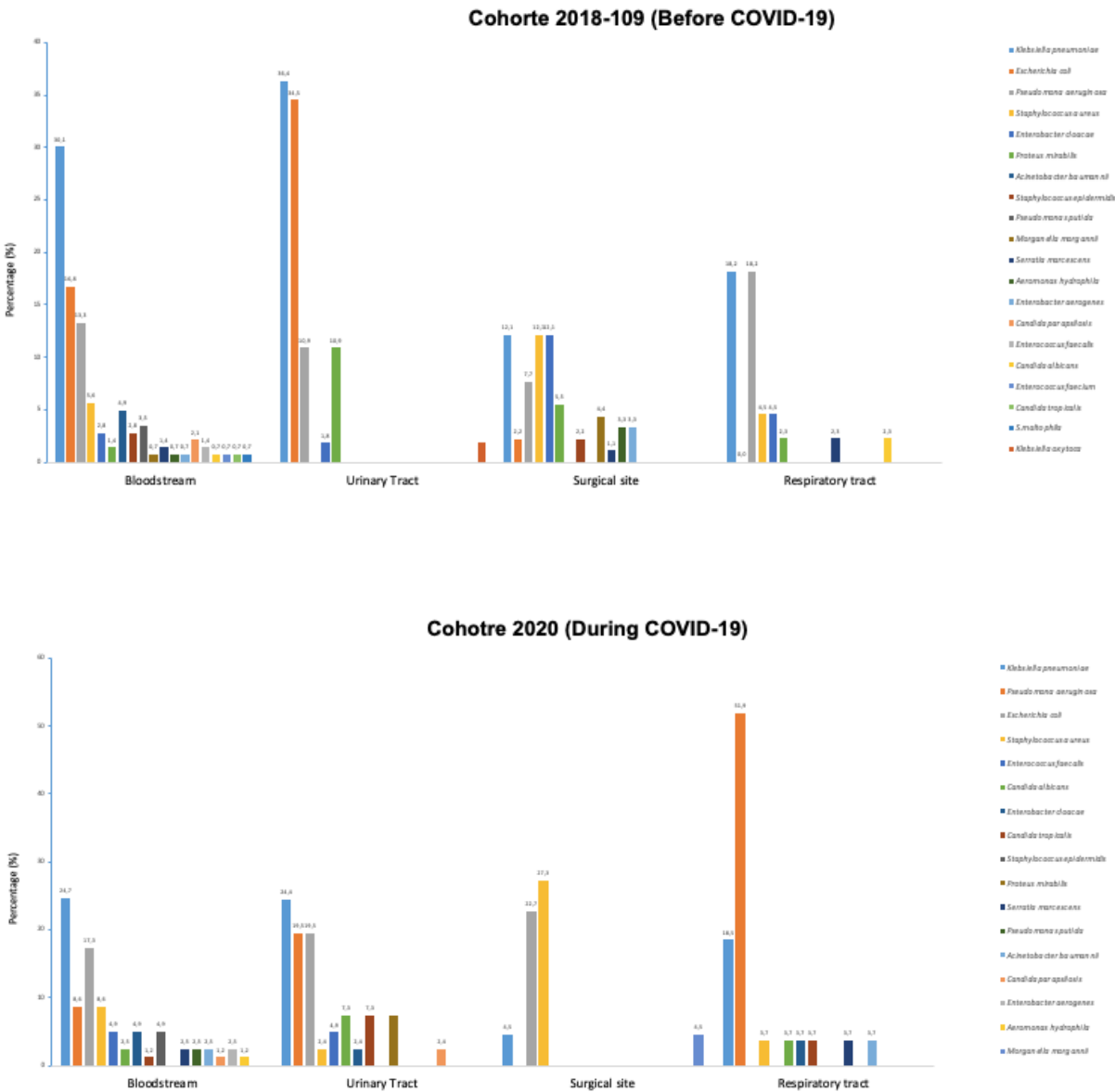
‡: p value determined by Chi2 test; ¥: p value determined by Student's t test.

Supplementary Table 2. Source of HAIs according to hospitalization service. Data represented as number of cases and percentage within each service.

	2018/2019 cohort	2020 cohort
Surgery		
Bloodstream	4 (2.8%)	1 (1.2%)
Urinary tract	2 (4%)	0 (0%)
Surgical site	89 (98%)	22 (100%)
Respiratory tract	2 (4.5%)	1 (3.7%)
Hospitalization		
Bloodstream	44 (31%)	20 (25%)
Urinary tract	15 (28%)	12 (29.3%)
Surgical site	0 (0%)	0 (0%)
Respiratory tract	18 (41%)	1 (3.7%)
Oncology		
Bloodstream	74 (52%)	32 (39.5%)
Urinary tract	25 (46%)	4 (9.8%)
Surgical site	1 (1%)	0 (0%)
Respiratory tract	7 (16%)	0 (0%)
ICU		
Bloodstream	18 (13%)	28 (34.6%)
Urinary tract	11 (20%)	23 (56.1%)
Surgical site	1 (1%)	0 (0%)
Respiratory tract	15 (34%)	25 (93%)
Intermediate care unit		
Bloodstream	3 (2.1%)	0 (0%)
Urinary tract	2 (4%)	2 (4.9%)
Surgical site	0 (0%)	0 (0%)
Respiratory tract	2 (4.5%)	0 (0%)

For surgical site infections between in 2018/2019 vs 2020 a significant decrease is seen that can be attributed to the number of surgeries that were performed during this period were restricted by the SARS-CoV-2 pandemic, as were bloodstream infections for the oncology service. On the other hand, bloodstream, urinary tract and respiratory tract infections increased significantly during the year 2020 due to the expansion of the installed capacity by reconversion of services, increasing the supply of intensive care beds, from 21 beds to 51 beds for adults and temporarily opening, in the Special Registry of Health Providers - REPS, 17 beds for adult intensive care and 18 beds for adult intermediate care; with the consequent growth in human talent, equipment and biomedical devices, to respond to the pandemic caused by SARS-CoV 2.

Supplementary Table 3. Most frequent microorganisms by type of infection



10.1 Conclusiones

1. Las infecciones del torrente sanguíneo fueron las más frecuentes para las dos cohortes analizadas (antes de COVID-19) y (durante COVID-19).
2. Los *Enterobacterales* se aislaron en el 50% de las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) y el 98% fueron monomicrobianas.
3. Las infecciones del tracto respiratorio aumentaron significativamente en la cohorte 2020 especialmente en las Unidades de Cuidado Intensivo (ICU), aumentando la mortalidad para pacientes positivos para SARS-CoV-2.
4. Los individuos que presentaron más de 2 comorbilidades se asociaron con un alto riesgo de adquirir una IAAS.
5. Se observó un aumento significativo de las IAAS en las UCI durante el periodo de atención a pacientes con COVID-19.

10.2 Productos del capítulo III

1. Publicación artículo científico sometido y aceptado para su publicación, Revista indexada *Q2 Journal of Positive Psychology and Wellbeing (JPPW)*.
2. Durante el desarrollo de este estudio se consolidaron bases de datos con información valiosa de la población pediátrica y de adultos, para realizar un análisis exhaustivo y detallado de todas las IAAS detectadas durante los últimos 3 años en el Hospital Internacional de Colombia.
3. El análisis de la resistencia bacteriana permitió realizar un mapa de calor con información valiosa donde están descritas las bacterias que se han identificado en las IAAS y porcentaje de resistencia antimicrobiana (Anexo A)

12. REFERENCIAS

1. Yamada M, Saier MH. Physical and genetic characterization of the glucitol operon in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1987;169(7):2990-94.
2. Weinstein EA, Ordonez AA, Demarco VP, Murawski AM, Pokkali S, Macdonald EM, et al. Imaging Enterobacteriaceae infection in vivo with F-fluorodeoxysorbitol positron emission tomography. *Sci Transl Med*. 2014;6(259):259ra146.
3. Zhu W, Yao S, Xing H, Zhang H, Tai Y chuan, Zhang Y, et al. Biodistribution and Radiation Dosimetry of the Enterobacteriaceae -Specific Imaging Probe [18 F] Fluorodeoxysorbitol Determined by PET / CT in Healthy Human Volunteers. *Mol Imaging Biol*. 2016;18(5):782–87.
4. Ordonez AA, Wintaco LM, Mota F, Restrepo AF, Ruiz-Bedoya CA, Reyes CF, et al. Imaging Enterobacterales infections in patients using pathogen-specific positron emission tomography. *Sci Transl Med*. 2021;13(589):eabe9805.
5. Adeolu M, Alnajar S, Naushad S, Gupta RS. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacterales’: Proposal for enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016;66(12):5575–99.
6. Brenner DJ, Farmer JJ. Enterobacteriaceae. *Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* [Internet]; 2015 [citado 17 de abril 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00222>.
7. Oren A, Garrity GM. Notification that new names of prokaryotes, new combinations and new taxonomic opinions have appeared in volume 66, part 12, of the IJSEM. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016;66(12):4921-23.
8. Octavia S, Lan R. The Family *Enterobacteriaceae*. 2014 [citado 18 de abril 2022]. Disponible en: https://doi:10.1007/978-3-642-38922-1_167.
9. Preston Church LW. *Enterobacteriaceae*. In: *Clinical Infectious Disease*. 2010.
10. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(5): a000414. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20452953/>
11. Master, B.R, Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases – Eighth Edition. Elsevier Saunders. 2016. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016 (2285-2287). Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00417-015-2950-1>.

12. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005;18(4):657–86. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16223952/>
13. Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet. 1998;351(9105):797–9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9519952/>
- 14... Doi Y, Paterson DL. Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*. Semin Respir Crit Care Med. 2015;36(1):74-84. Disponible en: <https://doi.org/10.1055/s-0035-1544208>.
15. Hansen GT. Continuous Evolution: Perspective on the Epidemiology of Carbapenemase Resistance Among *Enterobacterales* and Other Gram-Negative Bacteria. Infect Dis Ther 2021; 10(1):75-92. Disponible en: [/pmc/articles/PMC7954928/](https://pmc/articles/PMC7954928/)
16. Thomson KS. Extended-spectrum-beta-lactamase, AmpC, and Carbapenemase issues. J Clin Microbiol. 2010;48(4):1019–25. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20181902/>
17. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Vol. 11, Clin Microbiol Rev.); 1998;11(4) 589–603. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/CMR.11.4.589>.
18. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. Intensive Care Medicine. 2002;28(2):108–21. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11907653>
19. Voidazan S, Albu S, Toth R, Grigorescu B, Rachita A, Moldovan I. Healthcare Associated Infections-A New Pathology in Medical Practice Int J Environ Res Public Health [Internet]. 2020;17:760. Disponible en: www.mdpi.com/journal/ijerph
20. Ibrahim Abudakar, Ted Cohen, Helen R. Stagg LCR. Infectious Disease Epidemiology. Oxford University Press. Jun 2016 p. 1–371. Disponible en: <http://doi.org/10.1093/med/97801198719830.001.0001>.
21. Byndloss MX, Olsan EE, Rivera-Chávez F, Tiffany CR, Cevallos SA, Lokken KL, et al. Microbiota-activated PPAR- γ signaling inhibits dysbiotic *Enterobacteriaceae* expansion. Science. 2017;357(6351):570-75. Disponible en: <http://doi.org/10.1126/science.aam>.
22. Rogers AWL, Tsolis RM, Bäumlér AJ. Salmonella versus the Microbiome. Microbiol Mol Biol Rev. 2020 85(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33361269/>
23. Jacobson A, Lam L, Rajendram M, Tamburini F, Honeycutt J, Pham T, et al. A Gut Commensal-Produced Metabolite Mediates Colonization Resistance to Salmonella

- Infection. Cell Host Microbe. 2018;24(2):296-307.e7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30057174/>
24. Stecher B. The Roles of Inflammation, Nutrient Availability and the Commensal Microbiota in Enteric Pathogen Infection. Microbiol Spectr. 2015;3(3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26185088/>
 25. Bakaletz LO. Viral-bacterial co-infections in the respiratory tract. Curr Opin Microbiol [Internet]. 2017;35:30–5. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27940028/>
 26. Cappelletty D. Microbiology of bacterial respiratory infections. Pediatr Infect Dis J. 1998;17(8 Suppl). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9727651/>
 27. Waller TA, Pantin SAL, Yenior AL, Pujalte GGA. Urinary Tract Infection Antibiotic Resistance in the United States [Internet]. Vol. 45, Primary Care - Clinics in Office Practice. W.B. Saunders; 2018;p. 455–66. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30115334/>
 28. Langford BJ, Brown KA, Diong C, Marchand-Austin A, Adomako K, Saedi A, et al. The Benefits and Harms of Antibiotic Prophylaxis for Urinary Tract Infection in Older Adults. Clinical Infectious Diseases. Clin Infect Dis.2021;73(3): e782-e791. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33595621/>
 29. Karchmer AW. Nosocomial bloodstream infections: organisms, risk factors, and implications. Clin Infect Dis. 2000 [cited 2022 May 7];31 Suppl 4(SUPPL. 4). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11017863/>
 30. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. Clin Infect Dis. 1999;29(2):239–44. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10476719/>
 31. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. Clinical Infectious Diseases. 2004;39(3):309–17. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/421946>
 32. Talbot GH. The antibiotic development pipeline for multidrug-resistant gram-negative bacilli: current and future landscapes. Infect Control Hosp Epidemiol. 2010;31 Suppl 1(S1): S55–8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20929372/>
 33. Maria R. Antibiotic resistance : What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria Antibiotikaresistenz : Was ist so besonders an den Gram-negativen. GMS Hygiene Infect Control. 2017;10: Doc05. Disponible en: <http://doi:10.3205/dgkh000290.eCollection>.

34. Iovleva A, Doi Y. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. Vol. 37, Clinics in Laboratory Medicine. W.B. Saunders; 2017. p. 303–15.
35. Pérez-Vázquez A, Fariñas MC, Garcia-Palomo JD, Bernal JM, Revuelta JM, González-Macías J. Evaluation of the Duke Criteria in 93 Episodes of Prosthetic Valve Endocarditis: Could Sensitivity Be Improved Archives of Internal Medicine. 2000;160(8):1185–91. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/fullarticle/485290>
36. Lopardo HA, Garrahan JP, Profesor ", Predari SC. MANUAL DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DE LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA VOLUMEN I Bacterias de Importancia Clínica.
37. Martínez-Martínez L, Calvo J. [The growing problem of antibiotic resistance in clinically relevant Gram-negative bacteria: current situation]. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica [Internet]. 2010 Sep [cited 2022 May 7];28 Suppl 2(SUPPL. 2):25–31. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21130927/>
38. Prioridad G. Lista OMS de Antimicrobianos de Importancia Crítica para la Medicina Humana. Organizacion mundial de la salud. 2005;
39. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical Microbiology and Infection : the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases [Internet]. 2011;18(3):268–81. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/21793988>
40. Thomson KS. Extended-Spectrum- β -Lactamase, AmpC, and Carbapenemase Issues. Journal of Clinical Microbiology [Internet]. 2010;48(4):1019. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20802331/>
41. Logan LK, Weinstein RA. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. The journal of infectious diseases. 2017;2015(Suppl 1):1–9.
42. Ho J, Tambyah PA, Paterson DL. Multiresistant Gram-negative infections: a global perspective. Curr Opin Infect Dis [Internet]. 2010 Dec [cited 2022 May 7];23(6):546–53. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20802331/>
43. Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of Carbapenem-resistant enterobacteriaceae: The impact and evolution of a global menace. Journal of Infectious Diseases. 2017;2015(1).
44. Klevens RM, Edwards JR, Richards CL, Horan TC, Gaynes RP, Pollock DA, et al. Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. Hospitals, 2002. Public Health Reports. 2007;122(2):160–6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17357358/>

45. Informe elaborado por: Unidad de IAAS del Ministerio de Salud. 2019.
46. Esparza G, Esparza G. Bacterias Gram negativas resistentes a carbapenemicos en Colombia: un desafio continuo al sistema de salud. Infectio [Internet]. 2020;24(2):55–6. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000200055&lng=en&nrm=iso&tlng=es
47. Brink AJ. Epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative infections globally. Curr Opin Infect Dis [Internet]. 2019;32(6). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31567571/>
48. 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. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21303394/>
49. Talbot GH. The antibiotic development pipeline for multidrug-resistant gram-negative bacilli: current and future landscapes. Infect Control Hosp Epidemiol. 2010;31 Suppl 1(S1):S55–8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20929372/>
50. Esparza G, Esparza G. Bacterias Gram negativas resistentes a carbapenemicos en Colombia: un desafio continuo al sistema de salud. Infectio [Internet]. 2020;24(2):55–6. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000200055&lng=en&nrm=iso&tlng=es
51. Germán Esparzaa*, Beatriz Arizab, Ana María Bedoyac, Ingrid Bustosd, Claudia Rocío Castañeda-Ramireze, Elsa De la Cadenaf, María Nilse González de Ariasg, Liliana Guerrero Mónica, Aura Lucia Leali, Adriana Marínj, Marta Patricia Meléndezk, Clara Luz Ric MVVC de RB e IACIN. Estrategias para la implementación y reporte de los puntos de corte CLSI vigentes y pruebas fenotípicas confirmatorias para BLEE y carbapenemasas en bacilos Gram negativos en laboratorios clínicos de Colombia. Infectio. 2013. p. 5–9. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922013000200006
52. Esparza G, Esparza G. Bacterias Gram negativas resistentes a carbapenemicos en Colombia: un desafio continuo al sistema de salud. Infectio. 2020;24(2):55–6. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000200055&lng=en&nrm=iso&tlng=es
53. Olmos AF, Fuente CG de la, Nieto JAS, Ramos SV. Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón. In: Procedimientos en Microbiología Clínica. 2010. p. 1–52.
54. Ohtaki H, Takahashi A, Niwa A, Yonetamari J, Nakayama A, Kuchibiro T, et al. Evaluation of presumptive identification of Enterobacterales using CHROMagar Orientation medium and rapid biochemical tests. J Clin Lab Anal [Internet]. 2020;34(10). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32594571/>

55. York MK. Highlights of CLSI Document – Abbreviated Identification of Bacteria and Yeast - M35-A2, Second Edition. Clinical Microbiology Newsletter. 2010 May 1;32(9):65–72.
56. Exner M, Bhattacharya S, Christiansen B. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria multiresistenten Bakterien.
57. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Retamar P, Picón E, Pascual Á, Group the ESBLE de I en PI de E de IH. β -Lactam/ β -Lactam Inhibitor Combinations for the Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum β -Lactamase–Producing *Escherichia coli*: A Post Hoc Analysis of Prospective Cohorts. Clinical Infectious Diseases [Internet]. 2012;54(2):167–74. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article/54/2/167/469779>
58. Bush K. Past and present perspectives on β -lactamases. Vol. 62, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology; 2018.
59. Rodríguez-Baño J, Pascual A. Clinical significance of extended-spectrum β -lactamases. <https://doi.org/10.1586/1478721065671>. 2014;6(5):671–83. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/14787210.6.5.671>
60. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2005 Oct [cited 2022 May 8];18(4):657–86. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16223952/>
61. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, Hernández JR, Cisneros JM, Peña C, et al. Risk Factors and Prognosis of Nosocomial Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*. Journal of Clinical Microbiology . 2010;48(5):1726. Disponible en: /pmc/articles/PMC2863889/
62. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, Hernández JR, Cisneros JM, Peña C, et al. Risk Factors and Prognosis of Nosocomial Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*. Journal of Clinical Microbiology. 2010 [cited 2022 May 8];48(5):1726. Disponible en: /pmc/articles/PMC2863889/
63. Gamalathge PU, Kularatna S, Carter HE, Senanayake S, Graves N. Cost-effectiveness of interventions to reduce the risk of healthcare-acquired infections in middle-income countries: A systematic review [Internet]. Vol. 20, Journal of Infection Prevention. SAGE Publications Ltd; 2019. p. 266–73. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31762788/>
64. Tomography PE, Tomography C. Positron Emission Tomography - Computed Tomography (PET / CT). Radiological Society of North America, Inc. (RSNA). 2017.
65. Hess S, Hansson SH, Pedersen KT, Basu S, Høilund-Carlsen PF. FDG-PET/CT in Infectious and Inflammatory Diseases. PET Clin [Internet]. 2014 ;9(4):497–519. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26050949/>

66. Granados U, Fuster D, Pericas JM, Llopis JL, Ninot S, Quintana E, et al. Diagnostic Accuracy of 18F-FDG PET/CT in Infective Endocarditis and Implantable Cardiac Electronic Device Infection: A Cross-Sectional Study. *Journal of Nuclear Medicine* [Internet]. 2016;57(11):1726–32. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27261514>
67. Higgins LJ, Pomper MG. The Evolution of Imaging in Cancer: Current State and Future Challenges. *Seminars in Oncology*. 2011 Feb;38(1):3–15.
68. Glaudemans AWJM, Vries EFJ De, Galli F, Dierckx RAJO, Slart RHJA, Signore A. The Use of 18 F-FDG-PET / CT for Diagnosis and Treatment Monitoring of Inflammatory and Infectious Diseases. *Clinical and Developmental Immunology*. 2013;2013.
69. Li ZB, Wu Z, Cao Q, Dick DW, Tseng JR, Gambhir SS, et al. The Synthesis of 18F-FDS and Its Potential Application in Molecular Imaging. *Molecular Imaging and Biology*. 2008;
70. Li Z, Conti PS. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010 Aug 30;62(11):1031–51.
71. Saleem A, Aboagye EO, Matthews JC, Price PM. Plasma pharmacokinetic evaluation of cytotoxic agents radiolabelled with positron emitting radioisotopes. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2008;
72. Vaidyanathan S, Patel CN, Scarsbrook AF, Chowdhury FU. FDG PET/CT in infection and inflammation--current and emerging clinical applications. *Clin Radiol*. 2015;70(7):787–800. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25917543/>
73. Liberti M v., Locasale JW. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem Sci* [Internet]. 2016;41(3):211. Disponible en: /pmc/articles/PMC4783224/
74. Jamar F, Buscombe J, Chiti A, Christian PE, Delbeke D, Donohoe KJ, et al. EANM/SNMMI guideline for 18F-FDG use in inflammation and infection. *J Nucl Med* [Internet]. 2013;54(4):647–58. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23359660/>
75. Chen RY, Dodd LE, Lee M, Paripati P, Hammoud DA, Mountz JM, et al. PET/CT imaging correlates with treatment outcome in patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Sci Transl Med*. 2014;6(265). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25473034/>
76. Diagnostic performance of Fluorine-18-Fluorodeoxyglucose positron emission tomography for the diagnosis of osteomyelitis related to diabetic foot: a systematic review and a meta-analysis - Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE): Quality-assessed Reviews - NCBI Bookshelf. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK184623/>
77. Mutch CA, Ordonez AA, Qin H, Parker M, Bambarger LE, Villanueva-Meyer JE, et al. Para-Aminobenzoic Acid: A Positron Emission Tomography Tracer Targeting Bacteria-Specific Metabolism. *ACS Infectious Diseases*. 2018;

78. Ordonez AA, Weinstein EA, Bambarger LE, Saini V, Chang YS, DeMarco VP, et al. A systematic approach for developing bacteria-specific imaging tracers. *Journal of Nuclear Medicine*. 2017;58(1):144–50.
79. Yao S, Xing H, Zhu W, Wu Z, Zhang Y, Ma Y, et al. F-FDS and First-in-Human Evaluation ☆. *Nuclear Medicine and Biology*. 2016;43(3):206–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2015.11.008>
80. Ordonez AA, Jain SK. Pathogen-Specific Bacterial Imaging in. *Seminars in Nuclear Medicine*. 2017; Disponible en: <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2017.11.003>
81. Zhu W, Yao S, Xing H, Zhang H, Tai Y chuan, Zhang Y, et al. Biodistribution and Radiation Dosimetry of the Enterobacteriaceae-Specific Imaging Probe [18F]Fluorodeoxysorbitol Determined by PET/CT in Healthy Human Volunteers. *Molecular Imaging and Biology*. 2016;
82. Ting R, Harwig C, Auf Dem Keller U, McCormick S, Austin P, Overall CM, et al. Toward [18F]-labeled aryltrifluoroborate radiotracers: in vivo positron emission tomography imaging of stable aryltrifluoroborate clearance in mice. *J Am Chem Soc*. 2008 Sep 10;130(36):12045–55. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18700764/>
83. Welling MM, Hensbergen AW, Bunschoten A, Velders AH, Roestenberg M, van Leeuwen FWB. An update on radiotracer development for molecular imaging of bacterial infections. Vol. 7, *Clinical and Translational Imaging*. 2019.
84. Bartholomä MD, Louie AS, Valliant JF, Zubieta J. Technetium and gallium derived radiopharmaceuticals: comparing and contrasting the chemistry of two important radiometals for the molecular imaging era. *Chem Rev*. 2010;110(5):2903–20. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20415476/>
85. Tsopelas C. Radiotracers used for the scintigraphic detection of infection and inflammation. *ScientificWorldJournal* [Internet]. 2015 [cited 2022 May 30];2015. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25741532/>
86. Jain SK. Imaging infections: From bench to bedside. *Imaging Infections: From Bench to Bedside*. 2017 May 25;1–261.
87. Kumar V, K. Boddeti D, G. Evans S, Angelides S. (68)Ga-Citrate-PET for diagnostic imaging of infection in rats and for intra-abdominal infection in a patient. *Curr Radiopharm* [Internet]. 2012 Dec 20 [cited 2022 May 30];5(1):71–5. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22074481/>
88. Palestro CJ, Love C, Tronco GG, Tomas MB, Rini JN. Combined labeled leukocyte and technetium 99m sulfur colloid bone marrow imaging for diagnosing musculoskeletal

- infection. Radiographics [Internet]. 2006;26(3):859–70. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16702459/>
89. Kumar V, Boddeti DK. 68Ga-Radiopharmaceuticals for PET imaging of infection and inflammation. Recent Results in Cancer Research. 2013;194:189–219.
 90. (22) (PDF) A consensus protocol for white blood cells labelling with technetium-99m hexamethylpropylene amine oxime. International Society of Radiolabeled Blood Elements (ISORBE). [cited 2022 May 30]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/13621492_A_consensus_protocol_for_white_blood_cells_labelling_with_techetium-99m_hexamethylpropylene_amine_oxime_International_Society_of_Radiolabeled_Blood_Elements_ISORBE
 91. Palestro CJ. Labeled Leukocyte Imaging: Dawn of an Era. J Nucl Med [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2022 May 30];61(Suppl 2):57S-58S. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33293451/>
 92. Palestro CJ. Labeled Leukocyte Imaging: Dawn of an Era (perspective on “Indium-111-Labeled Autologous Leukocytes in Man” J Nucl Med. 1977;18:1014–1021). Journal of Nuclear Medicine [Internet]. 2020 Dec 1;61(Supplement 2):57S-65S. Disponible en: https://jnm.snmjournals.org/content/61/Supplement_2/57S
 93. Glaudemans AWJM, Galli F, Pacilio M, Signore A. Leukocyte and bacteria imaging in prosthetic joint infection. Eur Cell Mater [Internet]. 2013;25:61–77. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23325539/>
 94. Langer O, Brunner M, Zeitlinger M, Ziegler S, Müller U, Dobrozemsky G, et al. In vitro and in vivo evaluation of [18F]ciprofloxacin for the imaging of bacterial infections with PET. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2005;32(2):143–50. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15690222/>
 95. Gustafsson S, Eriksson J, Syvänen S, Eriksson O, Hammarlund-Udenaes M, Antoni G. Combined PET and microdialysis for in vivo estimation of drug blood-brain barrier transport and brain unbound concentrations. Neuroimage. 2017 Jul 15;155:177–86.
 96. Synthesis of fluorine-18-labeled biotin derivatives: biodistribution and infection localization - PubMed. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7931672/>
 97. Assadi M, Ostovar A, Vahdat K, Nabipour I, Javadi H, Eftekhari M. A pooled analysis of diagnostic value of (99m)Tc-ubiquitin (UBI) scintigraphy in detection of an infectious process. Clin Nucl Med [Internet]. 2013;38(6):413–6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23652406/>
 98. Vaidyanathan S, Patel CN, Scarsbrook AF, Chowdhury FU. FDG PET/CT in infection and inflammation--current and emerging clinical applications. Clin Radiol. 2015;70(7):787–800. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25917543/>

99. Mota F, Ordonez AA, Firth G, Ruiz-Bedoya CA, Ma MT, Jain SK. Radiotracer Development for Bacterial Imaging. Vol. 63, Journal of Medicinal Chemistry. American Chemical Society; 2020. p. 1964–77.
100. Yu S. Review of 18 F-FDG synthesis and quality control. Biomedical Imaging and Intervention Journal. 2006;2(4):1–11.
101. Otero ML, Menezes RC, Ferreira IBB, Issa FL, Agareno G, Carmo TA, et al. Factors associated with mortality in critically ill patients diagnosed with hospital acquired infections. Infection and Drug Resistance. 2020; 13:2811–7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32848430/>
102. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. 2014. 1–20 p.
103. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. New England Journal of Medicine [Internet]. 2014;370(13):1198–208. Disponible en: /pmc/articles/PMC4648343/
104. Chiang CH, Pan SC, Yang TS, Matsuda K, Kim H Bin, Choi YH, et al. Healthcare-associated infections in intensive care units in Taiwan, South Korea, and Japan: Recent trends based on national surveillance reports. Antimicrobial Resistance and Infection Control. 2018;7(1):1–12.
105. Guidelines on Core Components of Infection Prevention and Control Programmes at the National and Acute Health Care Facility Level [Internet]. 2016. Disponible en: <http://apps.who.int/bookorders>.
106. Allegranzi B, Nejad SB, Combescure C, Graafmans W, Attar H, Donaldson L, et al. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: Systematic review and meta-analysis. The Lancet. 2011;377(9761).
107. Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2008 [2006 data] [Internet]. 2008. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/annual-epidemiological-report-communicable-diseases-europe-2008-2006-data>
108. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. New England Journal of Medicine. 2014;
109. Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. Infectious Disease Clinics of North America. 1997;11(2):479–96.

110. O'Grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Clin Infect Dis [Internet]. 2011;52(9):162–93. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article/52/9/e162/319981>
111. Kumar G, Adams A, Hererra M, Rojas ER, Singh V, Sakhuja A, et al. Predictors and outcomes of healthcare-associated infections in COVID-19 patients. International Journal of Infectious Diseases. 2021 Mar 1;104:287–92.
112. 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. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18538699/>
113. World Health Organization. Prevention of hospital-acquired infections : a practical guide / editors [Internet]. 2nd editio. G. Duce, Fondation Hygie, Geneva S, J. Fabry, Université Claude-Bernard, Lyon F, L. Nicolle, University of Manitoba, Winnipeg C, editors. World Health Organization. Geneva, Switzerland; 2002. 64 p. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67350>
114. Stelling JM, O'Brien TF. Surveillance of antimicrobial resistance: the WHONET program. Clin Infect Dis. 1997;24 Suppl 1. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8994799/>
115. Diseño del estudio IBEAS: prevalencia de efectos adversos en hospitales de Latinoamérica - Dialnet. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3668455>
116. Luna CM, Rodriguez-Noriega E, Bavestrello L, Guzmán-Blanco M. Gram-negative infections in adult intensive care units of latin america and the caribbean. Critical Care Research and Practice. 2014.
117. Guidelines on Core Components of Infection Prevention and Control Programmes at the National and Acute Health Care Facility Level. 2016. Disponible en: <http://apps.who.int/bookorders>.
118. Subbalakshmi E. Surveillance of Hospital Acquired Infection from Frequently Handled Surfaces in a Tertiary Care Teaching Hospital. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2018;7(2).
119. Cortes JA, Leal AL, Montañez AM, Buitrago G, Castillo JS, Guzman L. Frequency of microorganisms isolated in patients with bacteremia in intensive care units in Colombia and their resistance profiles. Brazilian Journal of Infectious Diseases. 2013;17(3):346–52.
120. Leal AL, Arturo C, Jorge Á, Cortes María A, Ovalle V. Boletín informativo GREBO. 2017 . Disponible en: www.grebo.org

121. Sligl WI, Dragan T, Smith SW. Nosocomial Gram-negative bacteremia in intensive care: Epidemiology, antimicrobial susceptibilities, and outcomes. *Int J Infect Dis.* 2015;37:129-34.
122. Costelloe C, Metcalfe C, Lovering A, Mant D, Hay AD. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: Systematic review and meta-analysis. Vol. 340, *BMJ (Online)*. BMJ; 2010. p. 1120.
123. E Z, D H, O T, C F, P S, CK Y, et al. Health care-associated infections: a meta-analysis of costs and financial impact on the US health care system. *JAMA Intern Med.* 2013; 173(22):2039–46. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23999949/>
124. Hurford A, Morris AM, Fisman DN, Wu J. Linking antimicrobial prescribing to antimicrobial resistance in the ICU: Before and after an antimicrobial stewardship program. *Epidemics.* 2012 Dec;4(4):203–10.
125. Katsios CM, Burry L, Nelson S, Jivraj T, Lapinsky SE, Wax RS, et al. An antimicrobial stewardship program improves antimicrobial treatment by culture site and the quality of antimicrobial prescribing in critically ill patients. *Critical Care.* 2012 Nov 5;16(6).