

Epidemiología y caracterización molecular de bacilos Gram negativos multirresistentes productores de sepsis intrahospitalaria en pacientes adultos

(Epidemiology and molecular characterization of multidrug-resistant Gram-negative bacilli producing in-hospital sepsis in adult patients)

Ronald Serrano-Urbe¹, Ana Flores-Carrero^{2,3,4}, Indira Labrador⁴, María Araque⁴ ✉

¹ Servicio de Medicina Interna. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, Mérida, Venezuela.

² Instituto de Previsión y Asistencia Social del Ministerio de Educación (IPASME), Mérida, Venezuela. ³ Centro de Microscopia Electrónica, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. ⁴ Laboratorio de Microbiología Molecular. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

Recibido: 02 de Febrero de 2016.

Aceptado: 02 de Mayo de 2016.

Publicado online: 06 de Mayo de 2016.

[TRABAJO ORIGINAL]

Resumen (español)

En este estudio se describen los aspectos epidemiológicos y el perfil microbiológico de 66 pacientes con sepsis recluidos en la emergencia de adultos del Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA), Mérida, Venezuela durante enero a julio de 2015. Además, se caracterizaron los bacilos Gram negativos productores de esta infección. Los datos clínicos y epidemiológicos fueron analizados según su distribución y frecuencia. El procesamiento microbiológico de los hemocultivos se realizó por métodos convencionales y automatizados. Las β -lactamasas de espectro extenso (BLEE) y carbapenemasas fueron detectadas fenotípicamente y mediante ensayos moleculares se confirmó la presencia de los genes *bla* y sus variantes. El 54, 5% de los pacientes eran masculinos y la edad promedio fue de 50, 9 años ($\delta= 20, 1$). La neumonía (37, 9%; 25/66) representó el principal foco primario de infección y la enfermedad renal crónica (34, 9%; 23/66) fue la comorbilidad más frecuente. La mortalidad se registró en 56, 1% de los pacientes. Solo en 6 casos de los 66 (9, 1%) se identificó el microorganismo productor de sepsis. Las especies de *Enterococcus* fueron resistentes a ampicilina. *E. faecium* demostró un fenotipo *vanA* y *S. aureus* fue oxacilina-resistente. Las enterobacterias produjeron diversas BLEEs (TEM-1, SHV-2, SHV-5, CTX-M-8 y CTX-M-15) y *P. aeruginosa* portaba genes codificantes para una metalo β -lactamasa VIM-2. Los hallazgos indican que la sepsis tiene un importante impacto como causa de morbilidad y mortalidad en pacientes adultos en el HULA. Estos hallazgos son útiles para mejorar la calidad de la atención sanitaria y las conductas terapéuticas empíricas para el tratamiento de la sepsis.

Palabras clave (español)

Sepsis, bacilos Gram negativos multirresistencia, caracterización molecular, epidemiología.

✉ Autor de correspondencia: María Araque. Laboratorio de Microbiología Molecular. Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela. Telefax: +58 274 2403180. Correo electrónico: araquemc@ula.ve

Abstract (english)

This study describes the epidemiological and microbiological profile of 66 patients with sepsis hospitalized in the adult emergence of the University Hospital of Los Andes (IAHULA), Mérida, Venezuela, from January to July 2015. Also, Gram negative bacilli producers of this infection were characterized. Clinical and epidemiological data were analyzed according to their distribution and frequency. Microbiological processing of blood cultures were performed by conventional and automated methods. The broad spectrum β -lactamases (ESBL) and carbapenemases were phenotypically detected and the presence of *bla* genes and their variants were confirmed by molecular assays. 54. 5% of patients were males with an average age of 50. 9 years ($\delta= 20. 1$). Pneumonia (37. 9%; 25/66) was the largest primary source of infection and chronic kidney disease (34. 9%; 23/66) was the most frequent comorbidity. Mortality was recorded in 56. 1% of patients. Only in 6 cases (9. 1%), the microorganisms producing sepsis were identified. *Enterococcus* species were resistant to ampicillin. *E. faecium* showed a *vanA* phenotype and *S. aureus* was oxacillin-resistant. Enterobacteria were producing several ESBLs (TEMP-1, SHV-2, SHV-5, CTX-M-8 and CTX-M-15) and *P. aeruginosa* carried genes encoding a VIM-2 type metallo- β -lactamase. Our results indicate that sepsis has a major impact as a cause of morbidity and mortality in adult patients in HULA. These findings are useful to improve the quality of healthcare and also empirical therapeutic approaches for the treatment of sepsis.

Keywords (english)

Sepsis, Gram-negative multidrug-resistant, molecular characterization, epidemiology.

Introducción

La sepsis representa una de las infecciones más importantes asociadas a los cuidados de la salud (1). Los consensos alcanzados sobre la definición de sepsis y sus complicaciones han permitido establecer con mayor precisión la magnitud del problema. En 1992 la American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine propusieron el concepto de sepsis como el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), cuya presencia puede obedecer a una infección documentada clínica y/o microbiológicamente. Esta respuesta puede evolucionar a un estado severo con disfunción orgánica aguda secundaria o a un shock séptico con hipotensión que no responde a la reanimación con líquidos (2).

La sepsis es una complicación comúnmente observada en todos los servicios de medicina interna, pero en las unidades de cuidados intensivos su prevalencia se encuentra entre un 5 y 19% con una tasa de mortalidad que varía del 20 al 65% (3). Algunos estudios revelan que más de 750000 nuevos casos de sepsis por año ocurren en los Estados Unidos representando una tasa aproximada de 300/100. 000 habitantes/año (4). En Europa estas cifras son menores 50/100. 000 hab/año, pero igualmente significativas (5). En Latinoamérica el impacto de la sepsis es parcialmente conocido. Un estudio realizado en Brasil demostró una incidencia de sepsis del 6, 4% en pacientes admitidos en el servicio de emergencias (6) y

en Colombia, se reportó la mortalidad en pacientes con SRIS, sepsis grave y shock séptico en 7, 3, 21, 9 y 45, 6%, respectivamente (7, 8). El incremento de la sepsis y sus complicaciones se ha atribuido a varios factores, como el envejecimiento de la población con enfermedades crónicas, la utilización de procedimientos invasivos, fármacos inmunosupresores, el uso de quimioterapia, los trasplantes, así como el aumento de la resistencia antimicrobiana (1-6). En consecuencia, el SRIS se ha convertido en un problema emergente de salud pública, de tal manera que proyecciones futuras estiman que los casos de sepsis en los Estados Unidos se incrementarán en aproximadamente 1, 5% anual, afectando a más 1100000 hab/año para el año 2020 (4).

La infección de las vías respiratorias, en particular la neumonía, es el foco más común de bacteriemia, y se asocia con la más alta mortalidad por sepsis. Otras fuentes frecuentes de infección incluyen el tracto urinario, el abdominal, la piel y los tejidos blandos, aunque en un 25% de los casos el foco infeccioso originario es desconocido (1, 9).

La fisiopatología de la sepsis es un proceso complejo y dinámico que involucra la participación de diversos elementos del sistema inmune, el cual consiste en un estado de inflamación exacerbado en respuesta a la presencia de un patógeno (8). Sólo una limitada proporción de pacientes que presentan SRIS (42%), tienen una infección diagnosticada microbiológicamente, mientras que en el caso de

sepsis severa o shock séptico estas cifras se elevan hasta un 70% (10). Actualmente se reconoce que un amplio espectro de microorganismos puede producir sepsis, incluyendo los hongos y virus (1, 3). Sin embargo, desde mediados de los años 1980, estudios epidemiológicos revelaron que las bacterias Gram positivas superaron en frecuencia a las Gram negativas como los agentes tradicionales productores de sepsis (1, 9, 10). Este cambio en el perfil etiológico es debido a múltiples factores entre los que destacan la prescripción de antibióticos de amplio espectro, uso generalizado de catéteres intravasculares y la utilización de métodos o técnicas diagnósticas invasivas (3, 9-11).

Si bien, el perfil bacteriológico de la sepsis varía de acuerdo a la localidad geográfica, complejidad de los cuidados ofrecidos y/o tipo de hospital, la presencia de patógenos multirresistentes, especialmente las bacterias productoras de β -lactamasas, complica el manejo y la evolución del paciente infectado, limitando las opciones terapéuticas, prolongando la estancia hospitalaria, además de aumentar la mortalidad y los costos en salud (1, 3, 7-12).

Las bacterias multirresistentes han causado brotes hospitalarios en todo el mundo, y además han sido identificadas como colonizantes y contaminantes de pacientes, trabajadores de la salud y del medio ambiente intra y extrahospitalario (3). En este contexto, desde hace más de una década, se ha documentado mediante estudios de epidemiología molecular un incremento de los bacilos Gram negativos multirresistentes productores de β -lactamasas de espectro extenso y de carbapenemasas, como causantes de brotes de sepsis y otras infecciones asociadas con los cuidados de la salud en el Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA), Mérida, Venezuela (13-15).

Un abordaje apropiado puede cambiar el curso de la sepsis de un estado grave o fatal a uno de pronóstico más favorable. Por lo tanto, el diagnóstico temprano de la SRIS a través de criterios clínicos y/o paraclínicos, así como la identificación del agente etiológico y la aplicación de una terapia antibiótica empírica precoz con base en la epidemiología local y la fuente sospechosa son de importancia fundamental para disminuir la mortalidad (1, 3, 7-10)

De acuerdo a lo expuesto, el propósito de este trabajo fue describir la epidemiología de la sepsis en pacientes admitidos en la emergencia de adultos del HULA, así como determinar el perfil microbiológico y la caracterización fenotípica y molecular de los bacilos

Gram negativos multirresistentes productores de esta infección.

Materiales y métodos

Descripción del área de estudio. Este trabajo se realizó en el Hospital Universitario de Los Andes ubicado en la región andina del occidente del país. Este es un hospital de tipo IV, público con especialidades y subespecialidades con atención asistencial, docente y de investigación. Tiene un área de influencia de aproximada 907938 habitantes, correspondiente al estado Mérida y zonas aledañas de los estados Táchira, Trujillo, Barinas, Zulia y parte de la frontera con Colombia. El servicio de emergencia de adultos está conformado por un área de triaje con capacidad de atención para 60 personas y tres áreas de hospitalización: Trauma shock (10 camas), estabilización (12 camas) y observación mixta (18 camas).

Pacientes. Durante el lapso de enero a junio de 2015 se atendieron en el Servicio de Emergencia de Adultos del IAHULA 9430 pacientes, de estos 2647 (28%) requirieron hospitalización en las diferentes dependencias que conforman dicha área. A partir de este grupo, se seleccionaron 66 pacientes (3, 1%), que cumplieron estrictamente con los criterios establecidos para el diagnóstico de sepsis (16, 17). Los datos clínicos y epidemiológicos de cada individuo fueron registrados en una ficha diseñada para los efectos de esta investigación. Este estudio cumplió con todos las normas éticas internacionales expuestas en la declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Medicina y del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes, bajo el código de proyecto No. FA-573-14-07-EE.

Recolección de la muestra clínica y análisis microbiológico. Por cada paciente y previa asepsia de la zona, se tomaron dos muestras de sangre venosa preferiblemente antes de iniciar la antibióticoterapia o dos horas después de haber suministrado la última dosis de antibiótico. La cantidad de sangre colectada se correspondió con el 10% del volumen total del medio contenido en los frascos para hemocultivo (Brain Heart Infusion; BBL, Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA). Una vez inoculado los medios de cultivo se enviaron inmediatamente al laboratorio. Los hemocultivos se mantuvieron en incubación a 36 °C con revisiones cada 24 horas hasta su positividad o por un máximo de 7 días. Una vez que se detectó el crecimiento bacteriano se procedió a realizar el

aislamiento primario del microorganismo siguiendo la metodología clásica. La identificación microbiológica se realizó utilizando el sistema automatizado Vitek 2 (BioMérieux, Marcy L'Etoile, France). Las pruebas de susceptibilidad se realizaron determinando la concentración inhibitoria mínima (CIM) utilizando las tarjetas Vitek 2 AST-N299, AST-N298, AST-P577 y AST-ST01.

Determinación fenotípica de β -lactamasas de espectro extenso (BLEE) y carbapenemasas. La detección de BLEE se realizó utilizando la prueba del sinergismo del doble disco (SDD) de acuerdo a lo descrito por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (18). Los discos utilizados en esta prueba fueron (BBL): ceftazidima (30 μ g), amoxicilina/ácido clavulánico (75/10 μ g) y cefotaxima (30 μ g). Las cepas *E. coli* ATCC 25922 (BLEE negativo) y *Escherichia coli* LMM-26 (BLEE positiva) fueron utilizadas como controles del ensayo.

Inicialmente la detección fenotípica de carbapenemasas se realizó mediante el método modificado de Hodge descrito en el CLSI (18) y posteriormente, en los casos que resultaran positivos se determinó la presencia de las metalo β -lactamasas utilizando discos de imipenem (10 μ g), meropenem (10 μ g) y ácido etilendiaminotetracético-mercaptopoacético de sodio (EDTA-SMA) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA). Los discos de EDTA-SMA fueron preparados impregnando discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro con 10 mL de una solución que contenía 4 volúmenes de EDTA (0, 5 M) y 6 volúmenes de SMA (300 mg/mL), obteniéndose una concentración final en cada disco de aproximadamente 750 μ g de EDTA y 2 mg de SMA. Una vez elaborados los discos, se dejaron secar a temperatura ambiente y fueron conservados a -20 °C. Placas de Mueller Hinton (MH; BBL) fueron inoculadas con suspensiones de las cepas ajustadas a una turbidez equivalente al 0, 5 de McFarland. Luego, se colocó el disco de EDTA-SMA en el centro de la placa y a ambos lados, a una distancia de 15 mm, se ubicaron los discos de imipenem y meropenem. Las placas fueron incubadas a 35 °C en aerobiosis durante 18-24 horas y posteriormente se procedió a la lectura e interpretación de la prueba. Se consideró la prueba positiva para la producción de una metalo β -lactamasa, cuando fue visible el incremento del halo de inhibición entre el β -lactámico (meropenem y/o imipenem) y el disco de EDTA-SMA. Como control de los discos de EDTA-SMA y de las pruebas de detección fenotípica de las metalo-enzimas, se utilizó la cepa *Pseudomonas aeruginosa* 77297 productora de metalo β -lactamasas de tipo VIM.

Para la detección de la enzima *Klebsiella pneumoniae*-carbapenemasa (KPC) se procedió inoculando placas de MH de la misma manera que en el caso anterior y se utilizaron discos de ácido borónico (BBL) y ertapenem colocados a una distancia de 15 mm de centro a centro. Un resultado positivo se determinó por un aumento del halo de inhibición entre los dos discos. En esta prueba se utilizó como control positivo la cepa *K. oxytoca* LMM-SA26 (*bla*_{KPC-2}).

Caracterización molecular de bacilos Gram negativos resistentes a los β -lactámicos. Preparación del ADN genómico. La extracción del ADN total se realizó mezclando varias colonias provenientes de cultivos frescos en 200 μ L de agua destilada estéril. Estas suspensiones se congelaron a -20 °C durante 30 min y luego se sometieron a ebullición durante 15 min. Los residuos celulares se separaron por centrifugación (13000 g durante 5 min a temperatura ambiente) y el ADN disuelto en el sobrenadante se recuperó en un tubo eppendorf estéril y se almacenó a -20 °C hasta su utilización en las pruebas de amplificación por PCR.

Determinación de genes codificantes para β -lactamasas. La detección de genes codificantes para TEM, SHV, CTX-M y las variantes CTX-M-1, -2, -8 y -9 se realizó utilizando los iniciadores y las condiciones de amplificación descritos previamente por Millán y col. (19). En el caso de las determinaciones que codifican para las metalo β -lactamasas (IMP, SPM y VIM) y *K. pneumoniae*-carbapenemasas (KPC) se utilizaron los iniciadores y las condiciones descritas previamente por Guevara y col. (20) y Labrador y Araque (15), respectivamente. En la tabla 1 se describen los iniciadores utilizados en este estudio. En todos los ensayos, los productos amplificados se separaron en geles de agarosa (Sigma-Aldrich) al 1%, teñido con bromuro de etidio (0, 5 μ g/mL; Sigma-Aldrich) y fotografiados con el UVP Biodoc-It System. Se utilizó el marcador de peso molecular de 100 pb (Bioneer) para identificar el tamaño de los productos amplificados.

Análisis de las secuencias. Los amplicones obtenidos fueron purificados utilizando el sistema AccuPrep PCR Purification (Bioneer) y secuenciados por Macrogen Inc. (Seul, Korea) mediante electroforesis capilar en un secuenciador modelo ABI 3730XL (Applied Biosystems, CA, USA), utilizando los mismos iniciadores usados en la PCR. Las secuencias nucleotídicas resultantes fueron analizadas mediante el uso del programa Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) del National Center for Biotechnology Information (NCBI) y comparadas con las secuencias genéticas incluidas en las base de datos <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

Tabla 1. Iniciadores que se utilizaron en este estudio

Iniciador	Secuencia (5' - 3')	Tamaño del Amplicón (pb)	Referencia
Fwbla _{CTX-M}	ATG TGC AGY ACC AGT AAR GTK ATG GC	593	19
Frbla _{CTX-M}	CCG CTG CCG GTY TTA TCV CCB AC		
Fwbla _{CTX-M-1}	ATG GTT AAA AAA TCA CTG C	550	19
Frbla _{CTX-M-1}	GGT GAC GAT TTT AGC CGC		
Fwbla _{CTX-M-2}	TTA ATG ATG ACT CAG AGC ATT C	906	19
Frbla _{CTX-M-2}	GAT ACC TCG CTC CAT TTA TTG C		
Fwbla _{CTX-M-8}	TGA ATA CTT CAG CCA CAC G	921	19
Frbla _{CTX-M-8}	TAG AAT TAA TAA CCG TCG GT		
Fwbla _{CTX-M-9}	AAC ACG GAT TGA CCG TCT TG	900	19
Frbla _{CTX-M-9}	TTA CAG CCC TTC GGC GAT		
Fwbla _{SHV}	GGG TTA TTC TTA TTT GTC GC	886	19
Frbla _{SHV}	TTA GCG TTG CCA GTG CTC		
Fwbla _{TEM}	ATA AAA TTC TTG AAG ACG AAA	1105	19
Frbla _{TEM}	GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC A		
Fwbla _{IMP}	CTA CCG CAG CAG AGT CTT TG	587	20
Frbla _{IMP}	AAC CAG TTT TGC CTT ACC AT		
Fwbla _{SPM}	CCT ACA ATC TAA CGG CGA CC	786	20
Frbla _{SPM}	TCG CCG TGT CCA GGT ATA AC		
Fwbla _{VIM}	AGT GGT GAG TAT CCG ACA G	261	20
Frbla _{VIM}	AGT GGT GAG TAT CCG ACA G		
Fwbla _{KPC}	GCT ACA CCT AGC TCC ACC TTC	893	15
Frbla _{KPC}	GAC AGTGGT TGG TAA TCC ATG C		

pb: pares de bases.

Resultados

En la tabla 2 se resumen las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes estudiados. Los 66 pacientes adultos se distribuyeron de la siguiente manera: femeninos 30 (45, 5%) y 36 masculinos (54, 5%). La edad promedio fue de 50, 9 años ($\delta= 20, 1$) en un rango que abarcó de 17 a 93 años. El 42, 4% de los pacientes con sepsis fueron hospitalizados en trauma shock, seguidos por los asignados al área de estabilización con 37, 9% y el resto con un 19, 7% en observación mixta. No se observaron diferencias notables en cuanto a la distribución de los pacientes femeninos y masculinos en las distintas áreas de hospitalización. De acuerdo al diagnóstico clínico principal se reconocieron diversos puntos de partida para la sepsis, siendo el tracto respiratorio (neumonías) el más frecuente (37, 9%; 25/66), seguidas por la infección del tracto urinario (21, 2%; 14/66), evidenciándose en ambos un predominio en el sexo masculino. El tercer lugar fue ocupado por la sepsis de origen abdominal y la infección de piel y tejidos blandos (10, 6% c/u; 7/66). Todos los pacientes presentaron por lo menos una comorbilidad subyacente, siendo las condiciones coexistentes más frecuentes: la enfermedad renal

crónica (34, 9%; 23/66), hipertensión arterial (28, 8%; 19/66) y diabetes mellitus (25, 8%; 17/66).

Del total de pacientes estudiados, el 18, 1% (12/66) no tenían tratamiento previo con antimicrobianos para el momento de la toma de la muestra, mientras que, el 81, 9% (54/66) restante se distribuyó de la siguiente manera: 6% (4/66) estaba recibiendo un antibiótico, 44% (29/66) una combinación de dos y 31, 8% (21/66) más de dos antimicrobianos. La monoterapia estuvo representada por imipenem. Las combinaciones más frecuentes fueron: piperacilina/tazobactam + ciprofloxacina (37, 9%; 11/29), ceftriazona + levofloxacina (34, 5%; 10/29) e imipenem + vancomicina (17, 2%; 5/29) y la triple terapia se observó con el uso combinado de imipenem + metronidazol + fluconazol (42, 9%; 9/21). De los 66 pacientes, solo 6 (9, 1%) resultaron positivos al estudio microbiológico, correspondiendo a 4 masculinos y 2 femeninos. Los casos fatales se ubicaron en 56, 1% (37/66), sin ninguna distribución particular en relación al sexo.

El diagnóstico clínico y microbiológico de los casos con hemocultivos positivos se muestra en la Tabla 3. Se identificaron 6 microorganismos diferentes (3 Gram positivos y 3 Gram negativos) en 6 pacientes con shock séptico que se ubicaron principalmente en el área de estabilización. Las especies bacterianas

Tabla 2. Características clínica-epidemiológicas de los pacientes con sepsis estudiados.

	Masculino nº 36 (54,5%)		Femenino nº 30 (45,5%)		Total nº 66 (100%)	
	Número	%	Número	%	Número	%
Grupo Etario						
< 30 años	9	13,6	3	4,5	12	18,1
30 - 39 años	4	6,1	6	9,1	10	15,2
40 - 49 años	4	6,1	6	9,1	10	15,2
50 - 59 años	9	13,6	6	9,1	15	22,7
60 - 69 años	2	3	5	7,6	7	10,6
≥ 70 años	8	12,1	4	6,1	12	18,2
Área de Hospitalización						
Trauma Shock	15	22,7	13	19,7	28	42,4
Estabilización	13	19,7	12	18,2	25	37,9
Observación Mixta	8	12,1	5	7,6	13	19,7
Diagnóstico de Ingreso						
Neumonía	14	21,2	11	16,7	25	37,9
Infección urinaria	9	13,6	5	7,6	14	21,2
Sepsis de origen abdominal	3	4,5	4	6,1	7	10,6
Infección de piel y tejidos blandos	3	4,5	4	6,1	7	10,6
Infección de sistema nervioso central	4	6,1	1	1,5	5	7,5
Otros diagnósticos	3	4,5	2	3	5	7,5
Co-morbilidad						
Enfermedad renal crónica	13	19,7	10	15,2	23	34,9
Diabetes mellitus	9	13,6	8	12,2	17	25,8
Hipertensión arterial	10	15,2	9	13,6	19	28,8
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	3	4,5	1	1,5	4	6
Insuficiencia cardíaca congestiva	0	0,0	2	3	2	3,0
Cirrosis hepática	1	1,5	0	0,0	1	1,5
Terapia con Antibióticos						
Ninguno	5	7,5	7	10,6	12	18,1
Monoterapia	2	3	2	3	4	6
Dos antibióticos	17	25,8	12	18,2	29	44
Más de 2 antibióticos	12	18,2	9	13,7	21	31,9
Cultivo Microbiológico						
Negativo	32	48,5	28	42,4	60	90,9
Positivo	4	6,1	2	3,0	6	9,1
Evolución clínica						
Curados	17	25,7	12	18,2	29	43,9
Fallecidos	19	28,8	18	27,3	37	56,1

identificadas fueron: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, complejo *Enterobacter cloacae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estas cepas fueron aisladas principalmente en pacientes cuya infección tuvo como punto de partida el tracto urinario (4/6). Tres de los 6 pacientes con mayor edad no sobrevivieron a la infección.

En la Tabla 4 y 5 se muestran los resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana realizadas en las bacterias Gram positivas y Gram negativas, respectivamente. *E. faecalis* demostró solo sensibilidad a 5 antibióticos (aminoglucósidos y glucopéptidos), mientras que *E. faecium* fue resistente a 10 de los 14 antibióticos probados, siendo sensible a glucopéptidos, estreptomina, linezolid y tetraciclina.

Tabla 3. Diagnóstico clínico y microbiológico de los seis pacientes con shock séptico que tuvieron hemocultivos positivos.

Nº	Diagnóstico clínico inicial	Edad	Sexo	Área de hospitalización	Microorganismo aislado	Evolución
1	Enfermedad renal aguda.	72	M	Estabilización	<i>Enterococcus faecalis</i>	Fallecido
2	Neumonía nosocomial	93	M	Estabilización	<i>Enterococcus faecium</i>	Fallecido
3	Neumonía asociada a ventilación mecánica.	21	M	Observación Mixta	<i>Staphylococcus aureus</i>	Curado
4	Infección del tracto urinario	70	M	Estabilización	<i>Escherichia coli</i>	Fallecido
5	Infección del tracto urinario asociado a catéter de hemodiálisis.	64	F	Observación Mixta	<i>Enterobacter cloacae</i> complejo	Curado
6	Infección del tracto urinario	37	F	Trauma Shock	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Curado

M: masculino; F: femenino; ITU: infección del tracto Urinario

S. aureus fue resistente a β -lactámicos, macrólidos, quinolonas y nitrofurantoina, pero permaneció susceptible a los glucopéptidos, quinupristina/dalfopristina, linezolid, tetraciclinas, tigeciclina, rifampicina y trimetropin/sulfametoxazol. Por otra parte, las pruebas de susceptibilidad permitieron evidenciar que las cepas de *E. coli* y del complejo *E. cloacae* presentaron resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro y a la combinación β -lactámico/inhibidor de β -lactamasas. Todas las enterobacterias fueron susceptibles a carbapenemos. Por el contrario, *P. aeruginosa* fue resistente a todos los carbapenemos probados, además de tener baja susceptibilidad a las cefalosporinas de amplio espectro. Todas las cepas Gram negativas fueron sensibles a tigeciclina y colistina.

En la Tabla 6 se describen las características fenotípicas y genéticas de las cepas Gram negativas resistentes a los β -lactámicos. Las cepas de *E. coli* y *E. cloacae* demostraron la producción de BLEE mediante la prueba SDD, mientras que la carbapenemasa fue detectada en *P. aeruginosa* a través del ensayo de Hodge, la cual fue definida como una metalo- β -lactamasa utilizando el disco EDTA-SMA. La caracterización molecular de las dos enterobacterias permitió demostrar un patrón complejo de producción de β -lactamasas, representado por 3 tipos diferentes de BLEEs (TEM, SHV y CTX-M). El análisis de la secuenciación de los genes bla_{BLEEs} en *E. coli* confirmó la presencia de bla_{TEM-1} , bla_{SHV-2} y $bla_{CTX-M-15}$, mientras que en la cepa complejo *E. cloacae* se identificaron 4 variantes: bla_{TEM-1} , bla_{SHV-5} , $bla_{CTX-M-8}$ y $bla_{CTX-M-15}$. En *P. aeruginosa* se logró detectar una metalo-enzima del grupo VIM cuya variante genética fue determinada por el análisis de la secuencia como bla_{VIM-2} . Todas estas cepas productoras de β -lactamasas presentaron

resistencia asociada, por lo menos, a un representante de las fluoroquinolonas y/o aminoglucósidos.

Discusión

La sepsis es una enfermedad compleja que a pesar de los grandes esfuerzos realizados en los últimos años para comprender sus aspectos fisiopatológicos, epidemiológicos y de tratamiento, sigue siendo un desafío diagnosticarla y tratarla precozmente (4-10). Los estudios epidemiológicos sobre la sepsis son necesarios para conocer la naturaleza de la enfermedad, su incidencia y sus determinantes pronósticos (5).

En este estudio se analizaron 66 pacientes adultos, con diagnóstico de sepsis hospitalizados en las áreas correspondientes a la emergencia de adultos, representando el 3, 1% de los pacientes admitidos en ese servicio. Varios reportes han confirmado que la incidencia de sepsis en servicios de medicina interna, distintos a la UCI, es de alrededor del 2% (7). Al igual que en otros estudios (1-5), se encontró que la sepsis fue más frecuente en pacientes masculinos, quienes también la desarrollaron más tempranamente. Sin embargo, independientemente del sexo, más de la mitad de los casos estudiados fueron mayores de 50 años, destacando un promedio de edad de 50, 9 años. Estudios realizados en la región reportan un promedio de 55 años en pacientes con sepsis con predominio del género femenino (7).

Estos resultados contrastan con estudios realizados en Europa y los Estados Unidos, en el cual la media de edad fue de más de 60 años (1, 4, 5, 10). Es conocido que las patologías que con mayor frecuencia causan sepsis son las que tienen origen en el tracto respiratorio, seguido por las infecciones

Tabla 4. Susceptibilidad antimicrobiana de bacterias Gram positivas aisladas de pacientes con shock séptico.

Antibiótico	Rango CIM (µg/mL)	<i>E. faecalis</i> nº 1		<i>E. faecium</i> nº 1		<i>S. aureus</i> nº 1	
		S	R	S	R	S	R
Ampicilina	≤8 - ≥16	0	1	0	1	NA	NA
Oxacilina	≤2 - ≥4	NA	NA	NA	NA	0	1
Eritromicina	≤0,5 - ≥8	0	1	0	1	0	1
Clindamicina	≤0,5 - ≥8	0	1	0	1	0	1
Gentamicina	≤84 - ≥16	NA	NA	NA	NA	0	1
Gentamicina*	≤ 120	1	0	0	1	NA	NA
Estreptomina*	≤ 300	1	0	1	0	NA	NA
Quinupristina/dal	≤1 - ≥4	0	1	0	1	1	0
Linezolid	≤2 - ≥8	1	0	1	0	1	0
Teicoplanina	≤8 - ≥32	1	0	0	1	1	0
Vancomicina	≤2 - ≥32	1	0	0	1	1	0
Tetraciclina	≤4 - ≥16	0	1	1	0	1	0
Tigeciclina	≤2 - ≥8	NA	NA	NA	NA	1	0
Ciprofloxacina	≤1 - ≥4	0	1	0	1	0	1
Levofloxacina	≤1 - ≥8	0	1	0	1	0	1
Moxifloxacina	≤0,5 - ≥2	0	1	0	1	0	1
Rifampicina	≤1 - ≥4	NA	NA	NA	NA	1	0
Nitrofurantoina	≤32 - ≥128	0	1	0	1	0	1
Trimetoprim/sul	≤2 /38- ≥4/76	NA	NA	NA	NA	1	0

*Alta concentración; Quinupristina/dal: quinupristin/dalfopristina; Trimetoprim/sul: trimetoprim/sulfametoxazole; CIM: concentración inhibitoria mínima; S: sensible; R: resistente; NA: no aplicable.

intrabdominales y las del tracto urinario (1, 5-10). Un patrón similar fue observado en este trabajo, las neumonías fueron el principal foco primario de sepsis, luego las infecciones del tracto urinario y en tercer lugar las de inicio abdominal. Por otra parte, la presencia de enfermedades subyacentes en el paciente séptico tiende a reducir la expectativa de vida y aumentar los riesgos de mortalidad (5, 9). Una serie de comorbilidades representada principalmente por la disfunción renal, hipertensión arterial y diabetes pudieron estar asociadas con la elevada mortalidad (56%) registrada en este estudio. Esta cifra, superior a la reportada por otros investigadores (1, 3, 5-10), también debe ser analizada en el contexto de una coyuntura social y económica que afectó los servicios de salud en todo el país para el momento en el que se desarrolló este trabajo, y que sin duda, influyó

negativamente en la calidad de atención del paciente con sepsis. Sin embargo, estudios como el de Ortíz y col. (21) plantea que la mortalidad debida a sepsis es más alta en países latinoamericanos que en países desarrollados y con base en el trabajo de Jaimes (22), es probable que estas diferencias tenga relación con el origen étnico de la población, el aspecto cultural, la calidad de los servicios de salud, los registros, así como las condiciones para llevar a cabo las investigaciones clínicas en el área.

Tradicionalmente el diagnóstico microbiológico en los pacientes con sepsis se realiza a través de la detección de un mismo microorganismo en más de una muestra de hemocultivo (6, 9, 10). Sin embargo, la sensibilidad de este método es muy baja, presentándose solo positividad en un tercio de los casos (1, 5). Al respecto, a pesar de que fueron

Tabla 5. Susceptibilidad antimicrobiana de bacterias Gram negativas aisladas de pacientes con shock séptico.

Antibiótico	Rango CIM (µg/mL)	<i>Escherichia coli</i> nº 1		<i>Enterobacter cloacae</i> complejo nº 1		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> nº 1	
		S	R	S	R	S	R
Ampicilina/sulb	≤8/4 - ≥32/16	0	1	NA	NA	0	1
Piperacilina/Taz	≤16/4 - ≥128/4	0	1	0	1	0	1
Cefoxitina	≤8 - ≥32	0	1	NA	NA	0	1
Ceftazidima	≤4 - ≥16	0	1	0	1	0	1
Cefotaxima	≤1 - ≥4	0	1	0	1	0	1
Cefepima	≤2 - ≥16	0	1	0	1	0	1
Aztreonam	≤4 - ≥16	0	1	0	1	0	1
Ertapenem	≤0,5 - ≥32	1	0	1	0	0	1
Imipenem	≤1 - ≥4	1	0	1	0	0	1
Meropenem	≤1 - ≥4	1	0	1	0	0	1
Amikacina	≤16 - ≥64	1	0	1	0	0	1
Gentamicina	≤4 - ≥16	1	0	0	1	0	1
Ácido nalidíxico	≤16 - ≥32	0	1	1	0	0	1
Ciprofloxacina	≤0,06- ≥1	0	1	1	0	0	1
Tigeciclina	≤0,1 - ≥16	1	0	1	0	1	0

Ampicilina/sulb: ampicilina/sulbactam; Piperacilina/Taz: piperacilina/tazobactam; CIM: concentración inhibitoria mínima; S: sensible; R: resistente; NA: no aplicable.

recolectadas por lo menos dos muestras de hemocultivo por paciente, solo en el 9% de estos se logró identificar el patógeno involucrado. Resultados similares han sido descritos por Mehta y col. (23) y Vanitha y col. (24) en India, quienes a partir del procesamiento de más de 3500 hemocultivos provenientes de pacientes febriles con sepsis, el aislamiento de bacterias no superó el 10%. Es probable que este resultado, inferior a lo clásicamente reportado, haya estado influenciado por la antibioticoterapia iniciada en el 82% de los pacientes antes de la toma de la muestra. Aún así, a pesar del bajo índice de positividad de las muestras analizadas en este estudio, los resultados obtenidos superaron a los encontrados por Seyyed (25) en Iran quien reportó el desarrollo bacteriano en un 4% de los hemocultivos.

Algunos reportes señalan que las bacterias Gram positivas igualan o superan en frecuencia a los Gram negativos como causantes de infecciones intrahospitalarias, incluyendo la sepsis (10). En este estudio no se observó la prevalencia de un microorganismo en particular. Por el contrario, en los

6 pacientes con diagnóstico de shock séptico donde se pudo determinar microbiológicamente el agente etiológico, se identificaron 6 bacterias diferentes que se distribuyeron en: 3 Gram positivos (*E. faecalis*, *E. faecium* y *S. aureus*) y 3 Gram negativos (*E. coli*, complejo *E. cloacae* y *P. aeruginosa*). Estas bacterias fueron aisladas a partir de cultivos monomicrobianos y en ningún caso se aislaron bacterias contaminantes. En Colombia, ambos grupos de microorganismos se encuentran asociados tanto a las sepsis adquiridas en la comunidad como las de origen intrahospitalario (7-9)

A pesar de que una de las limitantes de este trabajo fue el bajo número de aislamientos bacterianos, es de resaltar que todos estos agentes etiológicos presentaron un perfil de resistencia que requirió atención. Las dos especies de *Enterococcus* aisladas fueron resistentes a la ampicilina, además *E. faecium* también demostró un fenotipo *vanA* que destacó por su alto nivel de resistencia a vancomicina y teicoplanina. Son pocos los antibióticos activos contra cepas de *Enterococcus* resistentes a glucopéptidos. Sin

Tabla 6. Características fenotípicas y genéticas de las bacterias Gram negativas multirresistentes aisladas de pacientes con shock séptico.

Bacilo Gram Negativo (Nº cepa)	Detección fenotípica de β-lactamasas				Co-resistencia	Perfil de genes <i>bla</i>
	SDD	Hodge	Ácido Borónico	EDTA/SMA		
<i>E. coli</i> (15494.2)	+	NA	NA	NA	AN, CIP	<i>bla</i> _{TEM-1} <i>bla</i> _{SHV-2} <i>bla</i> _{CTX-M-15}
<i>E. cloacae</i> (15625)	+	NA	NA	NA	GTM	<i>bla</i> _{TEM-1} <i>bla</i> _{SHV-5} <i>bla</i> _{CTX-M-8} <i>bla</i> _{CTX-M-15}
<i>P. aeruginosa</i> (15830)	-	+	-	+	AMK, GTM, AN, CIP	<i>bla</i> _{VIM-2}

EDTA/SMA: ácido etilendiaminotetracético-mercaptoacético de sodio; NA: no aplicable; AN: ácido nalidixico; CIP: ciprofloxacina; GTM: gentamicina; AMK: amikacina.

embargo, varios estudios sugieren el uso de linezolid, una oxazolidinona, como alternativa terapéutica (9, 26). Por otra parte, *S. aureus* mostró un perfil de susceptibilidad que abarcó varios grupos de antibióticos como glucopéptidos, quinupristina/dalfopristina, linezolid y tigeciclina entre otros, pero demostró fenotípicamente, resistencia a todos los antibióticos β-lactámicos. Algunos autores recomiendan que en pacientes sépticos por especies de *Staphylococcus*, es importante considerar la prevalencia local de cepas meticilina-resistentes antes de comenzar una terapia empírica (1, 17, 26).

En Venezuela a partir de 1987, se ha observado un incremento marcado de cepas de *Enterobacteriaceae* productoras de BLEEs de origen intrahospitalario (13, 14, 19). En este estudio, *E. coli* y *E. cloacae* demostraron un perfil fenotípico compatible con la producción de BLEEs. La caracterización molecular de las β-lactamasas confirmó la presencia de las variantes *bla*_{TEM-1} y *bla*_{CTX-M-15} en ambas cepas y adicionalmente *bla*_{SHV-2} en *E. coli* y *bla*_{SHV-5} y *bla*_{CTX-M-8} en *E. cloacae*. Estos hallazgos confirman los resultados obtenidas por Abreu y col. (14), quienes caracterizaron cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* con una asociación compleja de diversas BLEEs en pacientes con infección nosocomial reclusos en las diferentes áreas de hospitalización de medicina interna del IAHULA. Dado este antecedente, es posible inferir que, desde el punto de vista genético, la diseminación de los genes *bla*_{BLEEs} en la emergencia de adultos del IAHULA sea de naturaleza policlonal, lo que pudiera estar reflejando un fenómeno evolutivo y endémico de origen diverso (13, 14, 19). Los carbapenemos han sido considerados

el tratamiento de elección en infecciones producidas por bacterias productoras de BLEE (27). Afortunadamente, *E. coli* y *E. cloacae* demostraron sensibilidad a todos los carbapenemos probados. No obstante, existe el riesgo de que el uso abusivo o inapropiado de estos antibióticos conduzca a la aparición de clonas resistentes, por lo cual es necesario vigilar su utilización terapéutica.

P. aeruginosa es un patógeno tradicionalmente reconocido como productor de sepsis (1, 5, 9, 27). En este trabajo *P. aeruginosa* demostró multirresistencia, en la que incluyó todos los β-lactámicos de amplio espectro (cefalosporinas y carbapenemos), aminoglucósidos y fluoroquinolonas. La secuenciación y análisis de los genes *bla* reveló la presencia de una metalo-β-lactamasa de tipo VIM variante *bla*_{VIM-2}. Estudios previos han reportado la circulación de *P. aeruginosa* productora de VIM-2 en hospitales de Caracas, Maracaibo y Ciudad Bolívar (20) En Mérida, Salazar y col. (28) describieron el aislamiento de 13 cepas de *P. aeruginosa* productora de VIM provenientes de pacientes reclusos en distintas áreas del IAHULA. Varios estudios refieren que el uso de una terapia combinada con drogas activas como la colistina asociada a un aminoglucósido o meropenem en altas dosis, disminuyó notablemente la mortalidad de pacientes con infecciones graves producidas por bacilos Gram negativos productores de metalo-enzimas (14, 17, 27). En este trabajo *P. aeruginosa* demostró sensibilidad a colistina. De manera que, considerando lo descrito en la literatura, la colistina utilizada con criterio clínico y microbiológico puede representar una alternativa

efectiva para la terapéutica combinada en sepsis producida por cepas de *P. aeruginosa* multirresistente.

Algunos investigadores señalan que el retardo en el inicio de una terapia adecuada con antibióticos, se asocia con un efecto adverso en la evolución y pronóstico de la sepsis, especialmente la producida por bacterias multirresistentes (9, 17, 27). En este sentido, los hallazgos obtenidos en este trabajo sugieren el uso empírico de los antibióticos con base en la distribución de los patógenos y sus patrones de susceptibilidad en las áreas o servicios donde se encuentren recluidos los pacientes.

Hasta ahora no existía información epidemiológica ni microbiológica concreta acerca de la sepsis en el servicio de emergencia de adultos del IAHULA. Si bien este estudio tuvo algunas limitantes, como un bajo número de pacientes, período y área de

estudio reducido, los resultados obtenidos son relevantes para establecer parámetros de referencia local, especialmente aquellos que permitirán mejorar la calidad de la asistencia sanitaria, así como la optimización de las conductas terapéuticas dada la importancia que tiene la sepsis, como una patología prevalente, en los distintos servicios de medicina interna del IAHULA.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes de la Universidad de Los Andes (CDCHA-ULA), código: ADG FA-02-97-07 y FA-573-14-07-EE.

Referencias

1. Florian BM, Sachin Y, Derek CA. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence*. 2014; 5: 4-11. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
2. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit. Care Med.* 1992; 20: 864-74. [\[PubMed\]](#)
3. 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. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
4. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermontg, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001; 29: 1303-10. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
5. Bouza C, López-Cuadrado T, Saz-Parkinson Z, Amate-Blanco JM. Epidemiology and recent trends of severe sepsis in Spain: a nationwide population-based analysis (2006-2011) *BMC Infect Dis.* 2015; 14: 717. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
6. Rezende E, Silva JM, Isola AM, Campos EV, Amendola CP, Almeida SL. Epidemiology of severe sepsis in the emergency department and difficulties in the initial assistance. *Clinics.* 2008; 63: 457-64. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
7. Rodríguez F, Barrera L, De la Rosa G, Dennis R, Dueñas C, Granados M, Londoño D, Molina F, Ortiz G, Jaimes F. The epidemiology of sepsis in Colombia: A prospective multicenter cohort study in ten university hospitals. *Crit Care Med.* 2011; 39: 1675-82. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
8. Gomez HG, Rugeles MT, Jaimes F. Características inmunológicas claves en la fisiopatología de la sepsis. *Infectio.* 2015; 19: 40-6. [\[Google Scholar\]](#)
9. Vendemiato AV, von Nowakonski A, Marson FA, Levy CE. Microbiological characteristics of sepsis in a University hospital. *BMC Infect Dis.* 2015; 15: 58. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
10. Quenot JP, Binquet C, Kara F, Martinet O, Ganster F, Navellou JC, Castelain V, Barraud D, Cousson J, Louis G, Perez P, Kuteifan K, Noirod A, Badie J, Mezher C, Lessire H, Pavon A. The epidemiology of septic shock in French intensive care units: the prospective multicenter cohort EPISS study. *Crit Care.* 2013; 17: R65. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
11. Kante M, Lakshmi M, Reddy S. Bacterial profile of blood stream infections and their antibiograms. *Int Res Med Sci.* 2015; 3: 698-704. [\[Google Scholar\]](#)
12. Wasihun AG, Wlekidan LN, Gebremariam SA, Dejene TA, Welderufael AL, Haile TD, Muthupandian S. Bacteriological profile and antimicrobial susceptibility patterns of blood culture isolates among febrile patients in Mekelle Hospital, Northern Ethiopia. *SpringerPlus.* 2015; 4: 314. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
13. Araque M, Nieves B, Lauretti L, Rossolini GM. Molecular basis of extended-spectrum β -lactamase production in nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Mérida, Venezuela. *Int J Antimicrob Agents.* 2000; 15: 37-42. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
14. Abreu S, Varela Y, Millán B, Araque M. *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de beta-lactamasas de espectro extendido, aisladas en pacientes con infección asociada a los cuidados de la salud en un hospital universitario. *Enf Inf Microbiol.* 2014; 34: 92-9 [\[Google Scholar\]](#)
15. Labrador I, Araque M. First description of KPC-2-producing *Klebsiella oxytoca* isolated from a pediatric patient with nosocomial pneumonia in Venezuela. *Case Reports Infect Dis.* 2014, doi: 10.1155/2014/434987. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
16. 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: 309-32. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
17. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubinfeld GD, Webb SA, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R. Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med.* 2013; 41: 580-637. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing;

- Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI Document M100-S25. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. USA, 2015.
19. Millán B, Castro D, Ghiglione B, Gutkind G, Araque M. ISCR1 asociado a genes bla_{CTX-M-1} y bla_{CTX-M-2} en plásmidos IncN e IncFIIA aislados en *Klebsiella pneumoniae* de origen nosocomial en Mérida, Venezuela. *Biomédica*. 2013; 33: 268-75. [[Pubmed](#)] [[Google Scholar](#)]
 20. Guevara A, de Waard J, Araque M. Detección del gen bla_{VIM-2} en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de metalo β-lactamasa aisladas en una unidad de cuidados intensivos en Ciudad Bolívar, Venezuela. *Rev Chilena Infect*. 2009; 26: 328-33. [[Google Scholar](#)]
 21. Ortiz G, Dueñas C, Rodríguez F, Barrera L, de La Rosa G, Dennis R, Granados M, Londoño D, Molina F, Jaimes F. Epidemiology of sepsis in Colombian intensive care units. *Biomédica*. 2014; 34: 40-7. [[Pubmed](#)] [[Google Scholar](#)]
 22. Jaimes F. A literature review of the epidemiology of sepsis in Latin America. *Pam Am J Public Health*. 2005; 18: 163-71. [[Pubmed](#)] [[Google Scholar](#)]
 23. Mehta M, Dutta P, Gupta V. Antimicrobial susceptibility pattern of blood isolates from a teaching hospital in north India. *Jpn J Infect Dis*. 2005; 58: 174-76. [[Pubmed](#)] [[Google Scholar](#)]
 24. Vanitha RN, Gopal K, Venkata NM, Vishwakanth D, Nagesh VRD, Yogitha M, Venkata SM, Thennarasu P. A retrospective study on blood stream infections and antibiotic susceptibility patterns in a tertiary care teaching hospital. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012; 4: 543-48. [[Google Scholar](#)]
 25. Seyyed MI. Identification of bacteriological agents and antimicrobial susceptibility of sepsis. *Afr J Microbial*. 2011; 5: 528-31. [[Google Scholar](#)]
 26. Wu JN, Gan TE, Zhu YX, CAO JM, Ji CH, Wu YH, Bin LV. Epidemiology and microbiology of nosocomial bloodstream infections: analysis of 482 cases from a retrospective surveillance study. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2015; 16: 70-7. [[Pubmed](#)] [[Google Scholar](#)]
 27. 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. [[Pubmed](#)] [[Google Scholar](#)]
 28. Salazar P, Araque M, Mosqueda N. Análisis fenotípico y detección del gen bla_{VIM} en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de metalo β-lactamasas provenientes de Mérida, Venezuela. *Rev Fac Farm*. 2010; 52: 17-22. [[Google Scholar](#)]

Como citar este artículo:

Serrano-Uribe R, Flores-Carrero A, Labrador I, Araque M. Epidemiología y caracterización molecular de bacilos Gram negativos multirresistentes productores de sepsis intrahospitalaria en pacientes adultos. *Avan Biomed* 2016; 5: 26-37.