

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



**RELEVANCIA DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA DE
ESCHERICHIA COLI EN EL DESARROLLO DE SÍNDROME DE
RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA Y MORTALIDAD EN
PACIENTES CON BACTERIEMIA POR *E. COLI*.**

TESIS DOCTORAL

MARTA MORA RILLO

Madrid, 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



**RELEVANCIA DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA DE
ESCHERICHIA COLI EN EL DESARROLLO DE SÍNDROME DE
RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA Y MORTALIDAD EN
PACIENTES CON BACTERIEMIA POR *E. COLI*.**

TESIS DOCTORAL

MARTA MORA RILLO

Directores de Tesis

José Ramón Arribas López
Francisco Arnalich Fernández

Madrid, 2013

© Marta Mora Rillo, 2013
marta.mora@salud.madrid.org
martamorarillo@gmail.com



Hospital Universitario La Paz

Comunidad de Madrid



JOSÉ RAMÓN ARRIBAS LÓPEZ, DOCTOR EN MEDICINA Y COORDINADOR DE LA UNIDAD DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

FRANCISCO ARNALICH FERNÁNDEZ, CATEDRÁTICO DE MEDICINA INTERNA Y JEFE DE SERVICIO DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

CERTIFICAN

Que el Proyecto de Investigación: **“Relevancia de los factores de virulencia de *Escherichia coli* en el desarrollo de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y mortalidad en pacientes con bacteriemia por *E. coli*”**, ha sido realizado bajo nuestra dirección por Dña. Marta Mora Rillo.

Este trabajo de investigación se ha llevado a cabo gracias a una ayuda del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) PI10/00795.

En nuestra opinión, el trabajo realizado y los resultados obtenidos reúnen los requisitos de originalidad y rigor metodológico necesarios para ser presentado como Memoria de Tesis Doctoral.

Madrid, 10 de Mayo de 2013

Fdo. Dr. José Ramón Arribas López

Fdo. Prof Dr. Francisco Arnalich Fernández

**A mis padres,
por hacer que fuera quien hoy soy**

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que han contribuido con su colaboración y estímulo a la realización de esta Tesis Doctoral:

Al Dr. Jose Ramón Arribas, director de esta tesis y compañero de trabajo. Gracias por tu estímulo constante desde aquellos primeros años de mi residencia hasta hoy.

Al Prof. Francisco Arnalich, codirector de esta tesis. Por tu apoyo docente e investigador, constante y fundamental para la realización de esta tesis.

Al Dr. Jesús Mingorance. Gracias Jesús por confiar en mí para sacar adelante parte de este proyecto y entender mis tiempos (y destiempos).

A Natalia Fernández, Investigadora Predoctoral, con la que he compartido proyecto de Tesis. Gracias por seleccionar genes y primers y llevar a cabo la parte experimental.

A todo el personal del Laboratorio de Microbiología, en especial a María Romero, porque parte de su trabajo habitual de identificación y antibiogramas ha nutrido esta Tesis.

A Dr. Jesús Diez-Sebastián, por el apoyo en el análisis estadístico.

A Francisco Gayá, por las constantes y pacientes enseñanzas en el diseño de bases de datos.

Al servicio de documentación del Hospital Universitario La Paz, en particular a Agustín Moreiras Blanco, que tan a punto tenía los artículos difíciles de conseguir.

A Carlos y Josema, mis especiales y exclusivos asesores informáticos, que actualizaron y atendieron todas mis necesidades informáticas, a cualquier hora.

A mis amigos doctores, Llanos, Gonzalo, Marta. Sus sabios consejos facilitaron esta ardua labor. Gracias por mantener la confianza de que también yo llegaría.

A mis amigos no doctores, con los que uní esfuerzos y estímulo, que evitaron que cayera en el desánimo. A Carolina, próxima doctora, por todas las tardes de intenso trabajo, gracias por el apoyo, tu tesón ha sido muy importante. A Leyre, otra próxima doctora, que me aproximó a los tiempos reales.

A los pacientes, el objeto y recompensa diaria de todos los esfuerzos.

**RELEVANCIA DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA DE
ESCHERICHIA COLI EN EL DESARROLLO DE SÍNDROME DE
RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA Y MORTALIDAD EN
PACIENTES CON BACTERIEMIA POR *E. COLI*.**

ÍNDICES

INDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	3
1.1.	Sepsis y respuesta inflamatoria sistémica.....	4
1.1.1.	Concepto	4
1.1.2.	Epidemiología de la sepsis.....	8
1.2.	Bacteriemias	12
1.2.1.	Concepto y clasificación	12
1.2.2.	Epidemiología de las bacteriemias	14
1.2.3.	Etiología de las bacteriemias.....	15
1.2.4.	Bacteriemias por <i>E. coli</i>	16
1.3.	<i>Escherichia coli</i>	20
1.3.1.	Diversidad genética de <i>E. coli</i>	25
1.3.2.	<i>E. coli</i> como patógeno extraintestinal.....	27
1.3.3.	Factores de virulencia de <i>E. coli</i>	32
1.4.	Factores de Virulencia en <i>E. coli</i> como predictores de gravedad clínica o mortalidad. Estado actual del problema.....	36
2.	JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	45
2.1.	Hipótesis	45
2.2.	Objetivos.....	45
3.	PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS.....	48
3.1.	Diseño y desarrollo del estudio.....	48
3.2.	Población, criterios de inclusión y exclusión y ámbito del estudio.....	49
3.3.	Ética y legislación.....	50
3.4.	Muestra y cálculo del tamaño muestral	50
3.5.	Variables del estudio y definición de las mismas	51
3.5.1.	Datos demográficos del paciente.....	51
3.5.2.	Enfermedades subyacentes, comorbilidad e inmunosupresión.....	51
3.5.3.	Variables relacionadas con el origen de la bacteriemia	54
3.5.4.	Variables relacionadas con lugar de adquisición de la bacteriemia.....	54
3.5.5.	Variables relacionadas con la afectación sistémica de la bacteriemia.....	55
3.5.6.	Variables relacionadas con el tratamiento	55
3.5.7.	Definición de sepsis, sepsis grave, shock séptico.....	56
3.5.8.	Variables relativas a la evolución clínica	56
3.5.9.	Determinaciones del laboratorio	57
3.5.10.	Determinaciones del laboratorio de microbiología.....	57
3.5.11.	Determinaciones del laboratorio de biología molecular	58
3.6.	Metodología estadística y análisis estadístico de los datos	61

4.	RESULTADOS.....	64
4.1.	Características globales de los pacientes ingresados en un hospital terciario con bacteriemia por <i>E. coli</i>	64
4.1.1.	Demografía.....	64
4.1.2.	Comorbilidades.....	66
4.1.3.	Origen y foco de la bacteriemia.....	67
4.1.4.	Repercusión del episodio de bacteriemia.....	68
4.1.5.	Tratamiento.....	69
4.1.6.	Evolución.....	71
4.2.	Características de los pacientes sin datos de SRIS secundarios a bacteriemia por <i>E. coli</i>	71
4.2.1.	Demografía.....	71
4.2.2.	Comorbilidades.....	72
4.2.3.	Origen y foco de la bacteriemia.....	72
4.2.4.	Tratamiento.....	73
4.2.5.	Evolución.....	73
4.3.	Características de los pacientes con Sepsis leve secundaria a bacteriemia por <i>E. coli</i>	74
4.3.1.	Demografía.....	74
4.3.2.	Comorbilidades.....	74
4.3.3.	Origen y foco de la bacteriemia.....	75
4.3.4.	Tratamiento.....	75
4.3.5.	Evolución.....	76
4.4.	Características de los pacientes con Sepsis grave secundaria a bacteriemia por <i>E. coli</i>	76
4.4.1.	Demografía.....	76
4.4.2.	Comorbilidades.....	77
4.4.3.	Origen y foco de la bacteriemia.....	77
4.4.4.	Tratamiento.....	77
4.4.5.	Evolución.....	78
4.5.	Características de los pacientes con Shock séptico secundario a bacteriemia por <i>E. coli</i>	78
4.5.1.	Demografía.....	78
4.5.2.	Comorbilidades.....	79
4.5.3.	Origen y foco de la bacteriemia.....	79
4.5.4.	Tratamiento.....	79
4.5.5.	Evolución.....	79
4.6.	Resumen en función de la respuesta inflamatoria a la bacteriemia: no SIRS, sepsis leve, sepsis grave y shock séptico.....	80
4.6.1.	Demografía.....	80
4.6.2.	Comorbilidades.....	81
4.6.3.	Origen y foco de la bacteriemia.....	82
4.6.4.	Evolución y Tratamiento.....	82

4.7. Resumen de las características de los grupos en función de la respuesta inflamatoria a la bacteriemia: casos leves vs casos graves.....	87
4.7.1. Demografía y comorbilidades	87
4.7.2. Episodio de bacteriemia: Origen, foco, tratamiento y evolución.	89
4.8. Análisis de la mortalidad	90
4.9. Características generales de los aislamientos de <i>E. coli</i>	94
4.9.1. Estudio de sensibilidad in vitro a antibióticos y de presencia de betalactamasas.....	94
4.9.2. Distribución de los distintos genes analizados	98
4.9.3. Diversidad genética de la población	107
4.10. Asociación de genes de virulencia de <i>E. coli</i> y características clínicas.	108
4.10.1. Genes de virulencia de <i>E. coli</i> y gravedad de la sepsis	108
4.10.2. Genes de virulencia de <i>E. coli</i> y mortalidad	110
5. DISCUSIÓN.....	123
5.1. Pacientes incluidos en el estudio	123
5.1.1. Comparación de la población de estudio con otras series de bacteriemias por <i>E. coli</i>	123
5.1.2. Comparación de la población de estudio con trabajos de similar diseño	127
5.2. Aislados de <i>E. coli</i>	128
5.3. Determinantes clínicos y microbiológicos de sepsis grave	131
5.3.1. Presencia de <i>cnf</i> como determinante de severidad de sepsis.....	131
5.3.2. Presencia de <i>bla</i> TEM como determinante de severidad de sepsis.....	134
5.4. Determinantes clínicos y microbiológicos de mortalidad	135
5.4.1. Factores dependientes del huésped como determinantes de mortalidad	135
5.4.2. Presencia de <i>fyuA</i> como predictor de mortalidad	136
5.4.3. Presencia de P fimbria como predictor de desenlace no fatal	139
5.5. Consideración finales: limitaciones del estudio y oportunidades de mejora.....	143
6. CONCLUSIONES.....	147
7. REFERENCIAS.....	151
8. ANEXOS.....	171
Anexo A: Comunicaciones a congresos.....	171
Anexo B: Informe Comité de Ética.....	172
Anexo C: Hoja de recogida de datos.....	173
Anexo D: Consentimiento informado.....	175

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios de Sepsis según la Conferencia de Consenso de 2001.....	6
Tabla 2. Sistema PIRO de estratificación de la sepsis	7
Tabla 3. Etiología de las bacteriemias en función del lugar de adquisición.....	16
Tabla 4. Genes de virulencia de <i>E. coli</i> y mecanismo celular en el que están involucrados.....	35
Tabla 5. Primers de secuenciación de genes de <i>E. coli</i>	60
Tabla 6. Antimicrobianos utilizados empíricamente.....	70
Tabla 7. Características demográficas en función de respuesta inflamatoria.....	80
Tabla 8. Comorbilidades en función de respuesta inflamatoria	81
Tabla 9. Origen y foco de la bacteriemia en función de la respuesta inflamatoria	82
Tabla 10. Datos relativos al episodio de bacteriemia en función de la respuesta inflamatoria ...	83
Tabla 11. Principios activos usados en función de la respuesta inflamatoria	83
Tabla 12. Características clínicas globales.....	85
Tabla 13. Características globales de la bacteriemia.....	86
Tabla 14. Características epidemiológicas de los casos leves y graves	88
Tabla 15. Características de los episodios bacteriémicos en casos leves y graves.....	89
Tabla 16. Tratamientos antibióticos instaurados en casos leves y graves.....	90
Tabla 17. Características clínicas de fallecidos y supervivientes.....	92
Tabla 18. Características del episodio bacteriémico de supervivientes y fallecidos	93
Tabla 19. Estudio de Sensibilidad a antimicrobianos de las cepas de <i>E. coli</i> aisladas.....	95
Tabla 20. Cepas resistentes a antimicrobianos en función de lugar de adquisición.....	95
Tabla 21. Distribución de los genes de betalactamasas.....	97
Tabla 22. Distribución de genes de virulencia en todos los aislados de <i>E. coli</i> del estudio.....	99
Tabla 23. Distribución de genes de virulencia en función del grupo filogenético	100
Tabla 24. Distribución de los grupos filogenéticos en función de variables clínicas.....	101
Tabla 25. Distribución de los genes de virulencia en función de la severidad de la sepsis.....	102
Tabla 26. Distribución de los genes de virulencia en función de la evolución final.....	103
Tabla 27. Distribución de los genes de virulencia en función del estado inmune.....	104
Tabla 28. Distribución de los genes de virulencia en función del foco de la bacteriemia.	105
Tabla 29. Distribución de los genes de virulencia en función de origen de la bacteriemia.	106

Tabla 30. Analisis multivariante de factores de riesgo para sepsis grave en pacientes con bacteriemia por <i>E. coli</i>	109
Tabla 31. Analisis multivariante de factores de riesgo para mortalidad en pacientes con bacteriemia por <i>E. coli</i>	110
Tabla 32. Analisis multivariante de factores de riesgo para Mortalidad, con exclusión de los factores de virulencia, en pacientes con bacteriemia por <i>E. coli</i>	111
Tabla 33. Resumen clínico epidemiológico de los estudios relacionados con genes de virulencia y sepsis o mortalidad.....	127
Tabla 34. Resumen clínico epidemiológico de los estudios relacionados con genes de virulencia y sepsis o mortalidad (y2).....	128
Tabla 35. Prevalencia de los distintos genes de virulencia en otros estudios.....	130
Tabla 36. Frecuencia de expresión del gen <i>cnf</i> en distintos estudios publicados.....	133
Tabla 37. Frecuencia de expresión del gen <i>fyuA</i> en distintos estudios publicados	138
Tabla 38. Frecuencia de expresión genes de las Fimbrias P en distintos estudios publicados..	141

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica.....	4
Figura 2. Incidencia de sepsis ajustada a la población, según sexo, en el periodo 1979-2000 ...	9
Figura 3. Mortalidad hospitalaria en pacientes ingresados por sepsis en el periodo 1979-2000. 10	
Figura 4. Tasas crudas de mortalidad por todas las causas, por causas no infecciosas, y por enfermedades infecciosas.	10
Figura 5. Número de casos de sepsis en función del patógeno, periodo 1979-2000.....	11
Figura 6. Frecuencia estimada de los principales patógenos implicados en el shock séptico.....	12
Figura 7. Incidencia según edad y sexo de bacteriemia por <i>E. coli</i> en la región sanitaria de Calgary, Canadá.....	17
Figura 8. Aumento relativo en el número de aislamientos de <i>E. coli</i> con fenotipo de resistencia diferentes.....	18
Figura 9. Ultra-Estructura microscópica esquemática de <i>E. coli</i>	21
Figura 10. Pared externa de <i>E. coli</i>	24
Figura 11. Contribución de los elementos genéticos móviles a la evolución del <i>E. coli</i> patogénico.....	26
Figura 12. Corte de riñón humano mostrando los lugares de adhesión de las distintas fimbrias de UPEC.....	29
Figura 13. Estructura de Fimbrias P.....	29
Figura 14. Mecanismo patogénico de <i>E. coli</i> uropatogénico (UPEC).	30
Figura 15. Modelo de acción de CNF, Sat/Vat e Hyla sobre la célula huésped.....	31
Figura 16. Distribución por edad y género de la población	64
Figura 17. Distribución por Servicios en Área Médica.....	65
Figura 18. Distribución por Servicios en Área Quirúrgica	65
Figura 19. Distribución por Servicios en Áreas de Críticos.....	65
Figura 20. Comorbilidad de la población.....	66
Figura 21. Origen de la bacteriemia en la población de estudio	67
Figura 22. Fuente de la Bacteriemia en la población estudiada	67
Figura 23. Evolución del episodio de bacteriemia en toda la población: grados de SRIS	68
Figura 24. Índice de Pitt en función de la respuesta inflamatoria a la bacteriemia	69
Figura 25. Horas desde la bacteriemia al inicio de tratamiento empírico	70
Figura 26. Distribución por edad y género de pacientes sin criterios de SIRS.	71
Figura 27. Distribución por edad y género de pacientes con SIRS leve.	74
Figura 28. Distribución por edad y género de pacientes con SIRS grave	76

Figura 29. Distribución por edad y género de pacientes con Shock Séptico	78
Figura 30. Mortalidad según respuesta inflamatoria (número y porcentaje).....	84
Figura 31. Número de fallecidos en función de su relación con el episodio de bacteriemia.	90
Figura 32. Distribucion de la respuesta inflamatoria a la bacteriemia en funcion de evolucion del episodio.....	92
Figura 33. Distribución de la escala de McCabe-Jackson de acuerdo a supervivencia.....	94
Figura 34. Numero de aislados de <i>E. coli</i> por cada SAP.....	107
Figura 35. Numero de aislados de <i>E.coli</i> con el mismo perfil de genes de virulencia.....	108
Figura 36. Curva ROC del modelo de regresión logística para predicción de sepsis grave en pacientes con bacteriemia por <i>E. coli</i>	109
Figura 37. Curva ROC del modelo de regresión logística para predicción de mortalidad en pacientes con bacteriemia por <i>E. coli</i>	111

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ATC	Sistema de Clasificación Anatómica, Terapéutica, Química (de su acrónimo en inglés <i>Anatomical, Therapeutic, Chemical classification system</i>)
BLEE	Betalactamasas de espectro extendido
CDC	Centers for the Disease Control and prevention
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EARSS	Sistema Europeo de vigilancia de resistencias a antimicrobianos (del acrónimo en inglés, European Antimicrobial Resistance Surveillance System)
ITU	Infección del tracto urinario
HULP	Hospital Universitario La Paz
IdiPAZ	Instituto de Investigación del Hospital Universitario La Paz
MLST	Tipificación según secuenciación de locus múltiples (del acrónimo en inglés, Multilocus sequence typing)
ND	No determinado
NS	No significativo
OR	Odds ratio
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (del acrónimo en inglés, Protease Chain Reaction)
ROC	Característica Operativa del Receptor (del acrónimo en inglés, Receptor Operator Curve)
SAP	Perfil alélico de SNP (del acrónimo en inglés, SNP allelic profile)
SD	Desviación estándar
SNP	Perfil alélico único (del acrónimo en inglés, Single nucleotid profile)
SRIS	Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

En pleno siglo XXI, las enfermedades infecciosas continúan siendo un reto a nivel mundial. Pese al gran avance realizado en los últimos años en el diagnóstico y tratamiento de las mismas, continúan siendo la tercera causa de muerte a nivel mundial tras los accidentes y las enfermedades no transmisibles (cardiovasculares fundamentalmente), y la primera en el continente africano [1].

Aunque inicialmente el desarrollo e introducción de los antimicrobianos redujo considerablemente la mortalidad de las enfermedades infecciosas [2], hoy por hoy el desarrollo de resistencias supone un reto e incluso una amenaza a los que debemos enfrentarnos [3,4]. Las principales sociedades científicas recomiendan la administración apropiada de los antimicrobianos, que incluye la selección óptima del principio activo, la dosis y la duración del tratamiento adecuadas y medidas para el control del uso de antibióticos, que puedan impedir o retrasar la aparición de resistencias entre los microorganismos, dado que el resultado de la aparición de resistencias a los antimicrobianos conlleva un aumento de la morbilidad, mortalidad y costos de la atención de la salud [3,5–8].

Asimismo el aumento de longevidad [9], el desarrollo y utilización de técnicas cada vez más invasivas y el incremento en el uso de fármacos inmunosupresores ha condicionado que los pacientes tengan infecciones más complejas, y con menor capacidad inmunitaria para sobrellevarlas.

En este contexto epidemiológico actual, con mayor número de pacientes longevos, con mayores intervencionismos e inmunosupresión, conjuntamente con la aparición progresiva y alarmantemente rápida de resistencias a los antimicrobianos, la detección precoz de datos de gravedad y mal pronóstico en los pacientes que promuevan la mayor precocidad en su atención intensiva han de ser bienvenidos.

1.1. Sepsis y respuesta inflamatoria sistémica

1.1.1. Concepto

La sepsis es el síndrome clínico derivado de la respuesta inflamatoria secundaria a la infección. El hecho fisiopatológico cardinal es la disregulación de la respuesta inflamatoria a la infección, común a otras noxas, y cuyos efectos van a ocurrir a distancia de la localización de la infección. Mediada por mediadores proinflamatorios, ocasiona a nivel tisular vasodilatación, leucocitosis y aumento de la permeabilidad de la microcirculación. Esta respuesta exagerada, lesiva y descontrolada de la inflamación puede llevar al fallo multiorgánico y la muerte.

En 1992, el *American College of Chest Physicians* (ACCP) y la *Society of Critical Care Medicine* (SCCM) [10] introdujeron las definiciones de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), sepsis, sepsis severa, shock séptico y fracaso multiorgánico.

La idea central para la definición de SRIS radica en que cualquier insulto al organismo, infeccioso o no, provoca una misma respuesta inflamatoria (Figura 1).

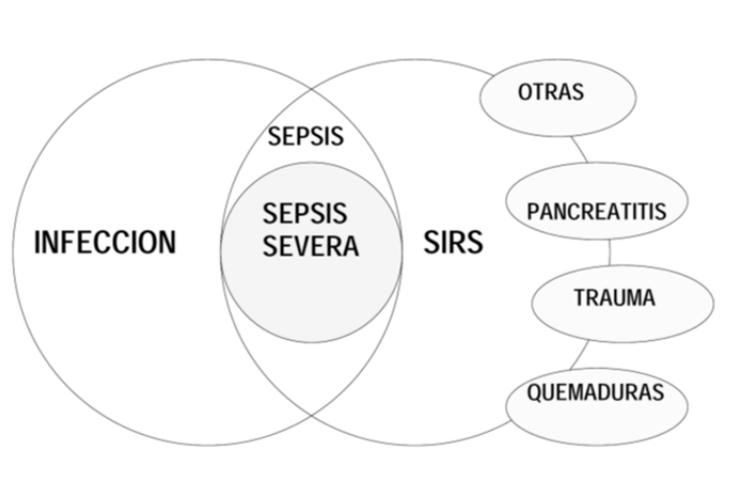


Figura 1. Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica. Adaptado de: Bone R *et al.* Chest 1992 [10].

Dentro de esta respuesta inflamatoria, existen distintos conceptos, grados y definiciones que es interesante diferenciar: SRIS, sepsis, sepsis grave y shock séptico.

El SRIS es el conjunto de signos y síntomas comunes en la respuesta del organismo frente a agresiones diversas que suscitan inflamación (no necesariamente infecciones). Para diagnosticar un SRIS se deben reunir, al menos, dos de los siguientes

criterios: temperatura corporal mayor de 38°C o menor de 36°C; frecuencia cardíaca mayor de 90 latidos por minuto; frecuencia respiratoria superior a 20 por minuto; recuento de leucocitos mayor de 12.000 por mm³ o menor a 4.000 por mm³.

Cuando el SRIS es debido a infección se denomina sepsis. Esta reacción del organismo se desarrolla como respuesta a distintos patógenos pero no se debe a la presencia de los mismos en sí, sino a la acción del sistema inmune liberando sustancias proinflamatorias que ponen en marcha la cascada inflamatoria del SRIS. La infección que desencadena sepsis puede o no manifestarse con bacteriemia, y puede ser debida a todos los grandes grupos de patógenos (bacterias, virus, hongos, parásitos), aunque con diferencia las bacterias son las que en el mayor número de las veces son las responsables de la sepsis.

Hablaremos de sepsis grave cuando además de los datos de SRIS secundarios a infección de cualquier localización, existan datos de hipoperfusión tisular, manifestados como hipotensión, acidosis, oliguria u obnubilación.

El siguiente grado de expresión del SRIS es el shock séptico, situación en la que pese a la resucitación adecuada con fluidos intravenosos, persiste la situación de hipoperfusión severa, secundaria fundamentalmente a la marcada reducción de las resistencias vasculares periféricas, siendo necesario el uso de drogas vasoactivas para la mejora de la perfusión tisular. Se trata de un shock de tipo distributivo.

El fin común de todos los tipos de shock (hipovolémico, distributivo, hemodinámico) es el fallo multiorgánico, fracaso de uno o varios órganos, cuyos criterios definitorios no están claramente establecidos [11]. Aunque no universalmente aceptados, los datos de fallos de sucesivos órganos o sistemas como la coagulación, la oxigenación, o el estado de conciencia se usan habitualmente para el diagnóstico de fracaso multiorgánico, y tienen una correlación adecuada con la mortalidad en las Unidades de Cuidados Intensivos [11].

Estas definiciones establecidas en la Conferencia de Consenso de 1992, aunque ampliamente usadas a lo largo de los años, también han recibido numerosas críticas respecto a su falta de especificidad y escasa capacidad predictiva del pronóstico [12–14].

En 2001 una nueva conferencia consenso [15] de las sociedades científicas relacionadas con la sepsis y el SRIS (*American College of Chest Physicians, Society of*

Critical Care Medicine (ACCP), *Society of Critical Care Medicine* (SCCM), *European Society of Intensive Care Medicine* (ESICM) y *Surgical Infection Society* (SIS)) intentaron actualizar conceptos relativos a las definiciones de SRIS.

Pese a la falta de especificidad de la definición de sepsis de la reunión de 1992, la nueva reunión de consenso de 2001 decidió aceptar las definiciones operativas de SRIS, sepsis, sepsis grave y shock séptico, usadas hasta la fecha, por considerarlas útiles tanto a nivel clínico como de investigación, aunque ampliaron los parámetros a considerar, como se aprecia en la Tabla 1, únicamente válidos para población adulta.

Tabla 1. Criterios de Sepsis según la Conferencia de Consenso de 2001. Adaptado de Levy *et al.* 2001. *Intensive care medicine.* 2003[15].

Infección documentada o sospechada y alguno de los siguientes parámetros:
<i>Variables generales</i>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fiebre (temperatura mayor a 38.3°C) ▪ Hipotermia (temperatura menor de 36°C) ▪ Frecuencia cardíaca mayor a 90 min⁻¹ o mayor de 2 desviaciones estándar del valor normal para la edad ▪ Taquipnea ▪ Alteración del estado mental ▪ Edema significativo o balance hídrico positivo (mayor de 20 cc/kg por mas de 24 hrs) ▪ Hiperglicemia (glicemia mayor a 120 mg/dl o 7.7 mmol/L) en ausencia de diabetes
<i>Variables inflamatorias</i>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Leucocitosis (cuenta WBC mayor de 12000 mm³) ▪ Leucopenia (cuenta WBC menor de 4000 mm³) ▪ Cuenta WBC normal con mas del 10% de formas inmaduras ▪ Proteína C-reactiva plasmática mayor de 2 desviaciones estándar del valor normal ▪ Procalcitonina plasmática mayor de 2 desviaciones estándar del valor normal
<i>Variables hemodinámicas</i>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hipotensión arterial (TAS:<90mmHg, TAM:<70, o un descenso de la TAS mayor a 40 mmHg en adultos o menor de 2 desviaciones estándar por debajo del valor normal para la edad) ▪ Saturación venosa mixta de oxígeno:>70% . Nota: El valor normal de ésta en niños oscila entre 75% y 80%. ▪ Índice cardíaco:>3.5 L.min⁻¹.M^{-2.3}. Nota: el valor normal en niños oscila entre 3.5 y 5.5.
<i>Variables de disfunción orgánica</i>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hipoxemia arterial (Pao₂/Fio₂<300) ▪ Oliguria aguda (gasto urinario<0.5 mL.kg⁻¹.hr⁻¹ o 45 mmol/L al menos por 2 hrs) ▪ Aumento de la creatinina mayor a 0.5 mg/dL ▪ Anormalidades de coagulación (INR>1.5 o aPTT>60 s) ▪ Ileo (en ausencia de obstrucción intestinal) ▪ Trombocitopenia (cuenta plaquetaria<100000 mm³) ▪ Hiperbilirubinemia (BT:>4 mg/dL o 70 mmol/L)
<i>Variables de perfusión tisular</i>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Acidosis láctica (>1 mmol/L) ▪ Disminución del llenado capilar o piel marmórea

La conferencia de Consenso de 2001, además de las modificaciones en los criterios definatorios de sepsis, introdujeron un nuevo modelo hipotético y futuro para el estadiaje de la sepsis, denominado PIRO, acrónimo de los componentes que evalúa: condiciones **P**redisponentes, naturaleza del **I**nsulto, naturaleza, magnitud de la **R**espuesta del huésped y el grado del daño **O**rgánico concomitante (Tabla 2).

Tabla 2. Sistema PIRO de estratificación de la sepsis Adaptado de Levy MM et al. 2001. Intensive care medicine. 2003[15].

Dominio	Presente	Futuro	Razón
Predisposición	Enfermedades premórbidas con probabilidad reducida de supervivencia a corto plazo. Creencias culturales y religiosas, edad y sexo.	Polimorfismos genéticos en los componentes de la respuesta inflamatoria (por ejemplo, en los receptores TLRs, receptores del TNF, IL-1, CD14); ampliando el entendimiento de interacciones específicas entre los patógenos y las enfermedades del huésped.	En el presente los factores premórbidos tienen un impacto en la morbilidad y mortalidad potencial atribuible después de una injuria aguda; las consecuencias nocivas de la injuria depende de forma importante de la predisposición genética (futuro).
Infección	Cultivos y sensibilidad de los patógenos infectantes; detección de la enfermedad responsable para controlar el origen.	Ensayo de productos microbiológicos (LPS, manano, ADN bacteriano). Perfil de transcripción de genes (PCR).	Terapias específicas dirigidas contra el estimulante de la injuria requiere demostración y caracterización de la injuria.
Respuesta	SIRS, otros signos de sepsis, shock, proteína C reactiva.	Marcadores no específicos de actividad inflamatoria (procalcitonina o IL-6) o huésped inmunosuprimido. Antígeno humano leucocitario (HLA-DR). Detección de la terapia específica (Proteína C, TNF, PAF).	Tanto el riesgo de mortalidad como la respuesta potencial a la terapia varían con medidas inespecíficas de la severidad de la enfermedad (por ejemplo shock).
Disfunción orgánica	Disfunción orgánica como el número de órganos en insuficiencia o componentes del score (MOD, SOFA, LODS, PEMOD y PELOD)	Medidas dinámicas de la respuesta celular a la injuria-apoptosis, hipoxia citotóxica y estrés celular.	Respuesta a la terapia preventiva (por ejemplo, microorganismo específico o mediador temprano) no es posible si el daño ya está presente; se requieren terapias específicas para el proceso de injuria celular.

Como se aprecia en la Tabla 2, el nuevo sistema de estadiaje de la sepsis es mucho más complejo y amplio que el previo, incluyendo en la ecuación para evaluar al paciente los propios factores predisponentes del mismo, factores dependientes del patógeno, factores asociados a la respuesta y factores dependientes de la disfunción orgánica secundaria. Este abordaje aunque muy interesante desde el punto de vista

conceptual no ha modificado demasiado la práctica clínica del abordaje de la sepsis desde el punto de vista diagnóstico, aunque ha abierto enormes vías de investigación y tratamientos futuros.

1.1.2.Epidemiología de la sepsis

Aunque se han hecho grandes avances en el tratamiento de la sepsis, todavía es una causa importante y creciente de mortalidad [16], situando a esta entidad en la undécima causa de mortalidad en Estados Unidos en 2010 [17], con una elevada carga económica, personal y del propio sistema sanitario [10,18].

Para el correcto abordaje diagnóstico y terapéutico de la sepsis, y de casi todas las entidades nosológicas, es importante conocer aunque sea arduo su importancia epidemiológica y estos datos siempre van a ser variables en función de la población en que lo estudiemos, por ejemplo la incidencia en población general será menor que si consideramos la incidencia entre pacientes hospitalizados, y también en función del tipo de proceso médico o quirúrgico que les haya llevado a la misma.

Incidencia de la sepsis

El estudio ya clásico de epidemiología de la sepsis de Angus *et al* [18] recoge los datos de pacientes al alta en Estados Unidos con el objeto de determinar la incidencia, coste y evolución de la sepsis severa ajustadas a edad y género en dicho país, basado en los diagnósticos según la clasificación ICD-9 [19] durante el año 1995. Según este estudio, la incidencia de sepsis severa durante 1995 fue de 300 casos por 100.000 habitantes. Según estimaciones con estos datos a nivel nacional en Estados Unidos habría 751.000 casos de sepsis grave por año, de los cuales el 55.5% tienen alguna comorbilidad asociada y el 51% requeriría ingreso en UCI.

Otro estudio epidemiológico [16] llevado a cabo asimismo en Estados Unidos, y con similar metodología (diagnóstico en base a la información del informe de alta de instituciones americanas, usando la clasificación ICD-9) muestra los datos evolutivos de la incidencia de sepsis entre los años 1979 al 2000. En este estudio se observó un incremento anual en la incidencia de la sepsis del 8.7% anual, como se muestra en la Figura 1. Sin embargo, la mortalidad debida a sepsis mostró una evolución opuesta a la de la incidencia, disminuyendo del 27.8% en el periodo 1979 a 1984 al 17.9% en el periodo 1995-2000.

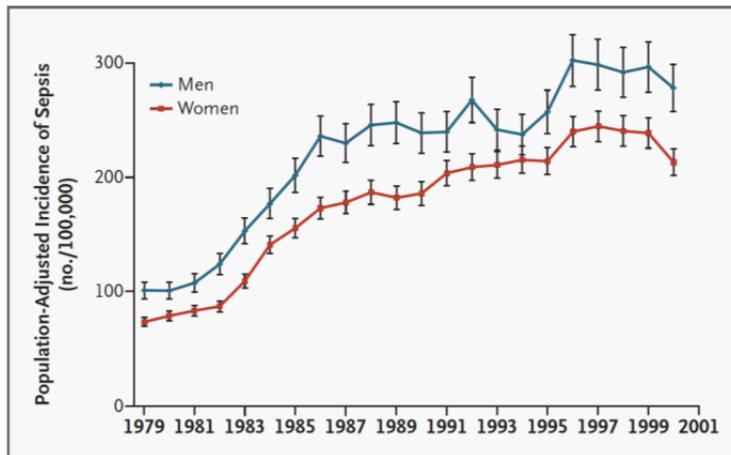


Figura 2. Incidencia de sepsis ajustada a la población, según sexo, en el periodo 1979-2000 Fuente: Martin GS *et al.* NEJM 2003[16].

De todas formas debido a las diferencias de las estimaciones de sepsis y su mortalidad en Estados Unidos en fechas muy recientes empiezan a surgir dudas respecto a si el método empleado para su estimación es el adecuado [20,21].

A nivel europeo se estima que existen entre 400.000 y 500.000 episodios de sepsis anuales. El estudio multinacional europeo SOAP [22] cifró la incidencia de sepsis en las 198 Unidades de Cuidados Intensivos participantes, de 24 países europeos, en el 37.4% de sus ingresos, de las cuales el 24.7% era el motivo de ingreso en el centro hospitalario.

Los datos específicos españoles, resultado del estudio SOAP [22] indican una incidencia de sepsis en las Unidades de Cuidados Intensivos españolas de 35%, similar a los países de su entorno socioeconómico.

Mortalidad por sepsis

La mortalidad por sepsis actualmente, aunque variable en función de la población y la gravedad de la misma puede estar entre un 20 y un 30% de los casos, con una clara mejoría del pronóstico conforme las medidas terapéuticas han evolucionado [23–25].

Según el estudio epidemiológico de Angus *et al* [18] mencionado previamente, la mortalidad global fue de 28,6%, que se incrementa a 34,1% si se consideran solo los pacientes ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos, o al 38.4% en ancianos por encima de 85 años de edad. Observamos en este estudio por tanto que tanto la incidencia como la mortalidad de la sepsis se incrementan con la edad.

En el estudio de Martin *et al* [16], publicado en 2003, los datos referentes a la mortalidad ponen de manifiesto que pese a que la incidencia de sepsis aumenta con los años, la mortalidad debida a la misma disminuyó del 27.8% en el periodo 1979 a 1984 frente al 17.9% en el periodo 1995-2000, como se aprecia en la Figura 3.

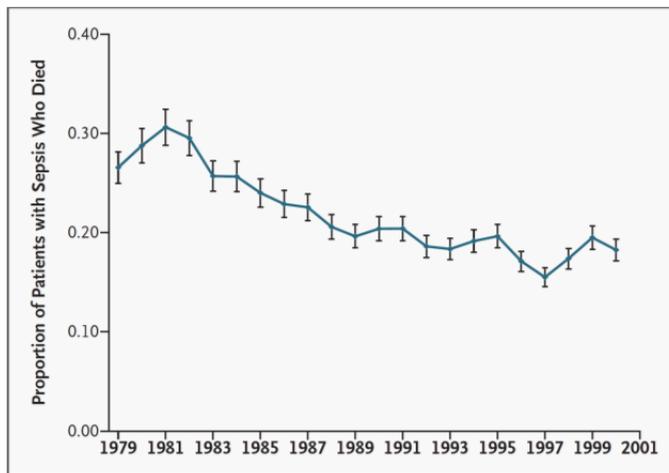


Figura 3. Mortalidad hospitalaria en pacientes ingresados por sepsis en el periodo 1979-2000. Fuente: Martin GS *et al.* NEJM 2003 [16]

Los datos ilustrativos de Armstrong *et al* [2] muestran el cambio temporal desde 1900 a nuestros días de las causas de mortalidad en la población americana, apreciando claramente como la introducción de las medidas higiénico dietéticas, las vacunas y la aparición de los antimicrobianos ha llevado consigo con una drástica caída de la mortalidad de causas infecciosas, como se aprecia en la Figura 4.

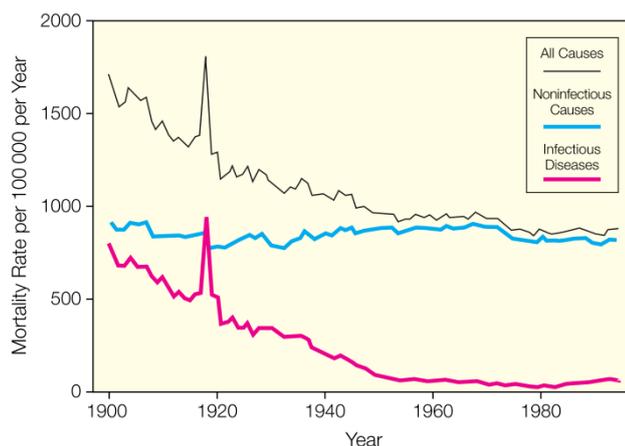


Figura 4. Tasas crudas de mortalidad por todas las causas, por causas no infecciosas, y por enfermedades infecciosas. Fuente: Armstrong GL. JAMA. 1999 [2]

Según el estudio SOAP [22], la mortalidad por sepsis en las UCIs participantes fue del 27%, que ascendía al 36% si se consideraba la mortalidad intrahospitalaria. Los

datos correspondientes a la mortalidad en España extraídos del mismo estudio son equivalentes a los globales, con un 30% de mortalidad intra-UCI y un 38% de mortalidad intrahospitalaria.

Etiología microbiana de la sepsis

Desde el punto de vista microbiológico la etiología de la sepsis también ha sufrido cambios en las últimas décadas, con un incremento marcado de la infección fúngica invasora, mucho mayor que el de las bacterias grampositivas que permanecen estables, o la discreta disminución que han sufrido las bacterias gramnegativas. Aunque estas tendencias son ciertas, la sepsis secundaria a bacilos gramnegativos sigue ocupando la primera posición en la etiología de la sepsis, como se muestra en la Figura 5 tomada de Martin *et al.* [16].

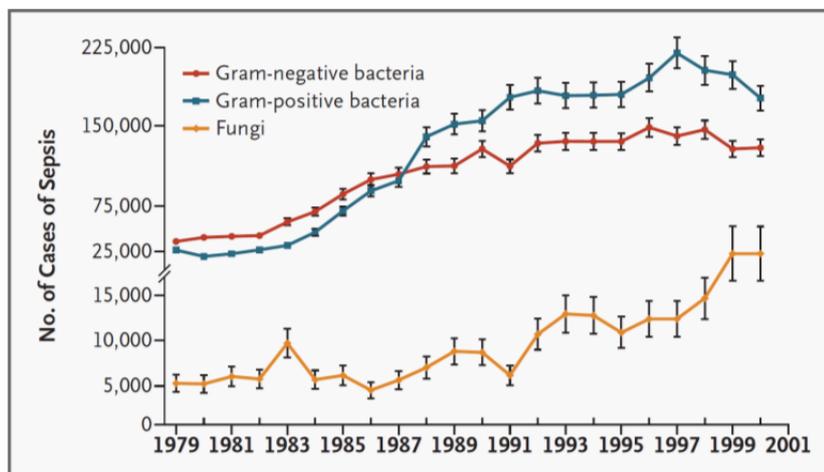


Figura 5. Número de casos de sepsis en función del patógeno, periodo 1979-2000. Fuente: Martin GS *et al.* NEJM 2003 [16].

Datos provenientes de estudios epidemiológicos y ensayos clínicos muestran discrepancias con los datos de Martin *et al* [16], encontrando que entre el 30 y el 50% de los episodios de sepsis están ocasionados por bacterias grampositivas, la principal de ellas en *Staphylococcus aureus*, en segundo lugar estarían las bacterias gramnegativas, suponiendo entre un 25 y un 30%, siendo *E. coli* la más frecuente del grupo, y en tercer lugar se encuentran los hongos, principalmente del genero *Candida*. Estas diferencias entre los datos de Martin *et al* [16], respecto a los más modernos compilados por Annane *et al* [26] pueden deberse en gran parte a la diferencia de considerar sepsis o shock séptico. En la Figura 6 podemos ver la frecuencia estimada de los distintos patógenos como causantes de shock séptico.

	Estimated frequency*
Gram-positive bacteria	30–50%
Meticillin-susceptible <i>S aureus</i>	14–24%
Meticillin-resistant <i>S aureus</i>	5–11%
Other <i>Staphylococcus</i> spp	1–3%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	9–12%
Other <i>Streptococcus</i> spp	6–11%
<i>Enterococcus</i> spp	3–13%
Anaerobes	1–2%
Other gram-positive bacteria	1–5%
Gram-negative bacteria	25–30%
<i>E coli</i>	9–27%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8–15%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2–7%
Other <i>Enterobacter</i> spp	6–16%
<i>Haemophilus influenzae</i>	2–10%
Anaerobes	3–7%
Other gram-negative bacteria	3–12%
Fungus	
<i>Candida albicans</i>	1–3%
Other <i>Candida</i> spp	1–2%
Yeast	1%
Parasites	1–3%
Viruses	2–4%

Figura 6. Frecuencia estimada de los principales patógenos implicados en el shock séptico. Fuente: Annane D *et al.* Lancet. 2005 [26].

1.2. Bacteriemias

1.2.1. Concepto y clasificación

Se denomina bacteriemia a la presencia de microorganismos viables en el torrente circulatorio. Las bacterias pueden proceder de una infección focal, en un órgano determinado, por ejemplo una infección del tracto urinario (ITU) o una colecistitis, denominándose en este caso bacteriemias secundarias. No es infrecuente que el origen de la bacteriemia no sea claro por ausencia de foco clínico al que atribuirle o muestra microbiológica coincidente en el tiempo con el mismo patógeno que el aislado en sangre, en estos casos se consideran como bacteriemias de origen desconocido. La CDC considera a las bacteriemias relacionadas con catéteres vasculares y las de origen desconocido como bacteriemias primarias [27].

La bacteriemia por su frecuencia e implicaciones clínicas se considera uno de los grandes síndromes en patología infecciosa. Las manifestaciones clínicas de las bacteriemias son muy variadas, desde un pico febril único autolimitado y con escasa

repercusión sistémica a la muerte por shock séptico. Esta clínica es compartida por los distintos patógenos implicados en su etiología, sin poder discernir por la clínica si el agente etiológico es bacteria gramnegativa, grampositiva u hongo

En función del lugar de la adquisición de la bacteriemia se clasificaron inicialmente en nosocomiales y comunitarias [27], considerando bacteriemias nosocomiales aquellas que aparecen tras al menos 48 horas de ingreso hospitalario por un motivo distinto a dicha bacteriemia. Por el contrario las bacteriemias comunitarias son aquellas detectadas en pacientes no ingresados y hasta las primeras 48h del ingreso, considerando que el ingreso es debido a esa infección en incubación.

Con los cambios en los modelos de atención sanitaria de los últimos años, se observó que la etiología microbiológica de las infecciones de pacientes clasificados como de origen comunitario pero procedentes de centros sanitarios como residencias de ancianos, centros ambulatorios de hemodiálisis o cirugía mayor ambulatoria se parecía más a la etiología de las infecciones nosocomiales. Esto motivó una reclasificación de las infecciones de origen comunitario en puramente comunitarias y en infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria [28]. Los criterios propuestos para considerar una bacteriemia como relacionada con los cuidados sanitarios son: ingreso durante más de 48 horas en hospital de agudos o crónicos en los 3 meses previos, residencia en centro socio sanitario, hemodiálisis u otro tipo de diálisis periódica, atención periódica en hospital de día u hospitalización domiciliaria.

Otra forma complementaria de clasificar las bacteriemias es en función del curso temporal que presenten, esto es: transitorias, intermitentes o continuas [29–31]. Las bacteriemias transitorias son aquellas que duran minutos u horas. Por lo general siguen a la manipulación mecánica o quirúrgica de tejidos infectados o con elevada colonización (por ejemplo, a través de manipulaciones dentales, cistoscopias o endoscopias gastrointestinales), aunque también pueden surgir en el curso de las actividades diarias, como el cepillado de los dientes, y en el inicio de infecciones agudas bacterianas como neumonía, meningitis o artritis séptica hematógena aguda. Las bacteriemias intermitentes son aquellas que presentan episodios breves de bacteriemia intercalados con periodos abacteriemicos. Este tipo de bacteriemia se asocia típicamente con colecciones profundas no drenadas como abscesos intraabdominales, pero también puede ocurrir en pacientes con infecciones locales, tales como la neumonía o la osteomielitis. La bacteriemia continua se observa con infecciones intravasculares, tales

como la endocarditis, la tromboflebitis séptica, los aneurismas micóticos o la infección de dispositivos intravasculares.

1.2.2.Epidemiología de las bacteriemias

El manejo adecuado de las bacteriemias pasa por conocer su epidemiología, pero ésta varía enormemente en función de la población en la que la estudiemos, por ejemplo no será la misma si consideramos la incidencia en población general que una población hospitalaria e incluso dentro del mismo hospital puede variar en función del tipo de unidad donde la evaluemos. Con estos matices y diferencias entre centro podemos hablar de una incidencia estimada entre 100 y 200 episodios por 100.000 habitantes y año.

Aunque existen pocos estudios poblacionales recientes, los datos disponibles de estudios a largo plazo muestran un incremento progresivo en la incidencia de las bacteriemias a lo largo de las últimas décadas [16,32,33]. En Minnesota, Estados Unidos, la incidencia ajustada por edad y sexo era de 189 casos por 100.000 personas-año en el periodo 2003-2005 [34].

Si nos centramos en datos españoles encontramos dos grandes estudios recientes que nos ilustran sobre este cambio de epidemiología de las bacteriemias en nuestro país, realizados en los hospitales terciarios Gregorio Marañón (Madrid) [33] y Virgen de la Macarena (Sevilla) [35].

En el estudio de Rodríguez-Baño *et al* [35] llevado a cabo en hospitales terciarios y comarcales de Sevilla entre los años 2006 y 2007, la incidencia mínima estimada de bacteriemia fue de 109 casos por 100.000 habitantes o 14 episodios por 1000 ingresos. La incidencia era estadísticamente mayor en los hospitales terciarios que en los comarcales (116 episodios vs 75 episodios por 100.0000 habitantes y año), principalmente debido a los casos nosocomiales de los hospitales terciarios.

El otro gran estudio nacional, llevado a cabo en el Hospital Gregorio Marañón (Madrid) [33], se basó en todos los episodios de bacteriemia detectados desde el laboratorio de microbiológica entre los años 1985 y 2006. La incidencia en esos años en el centro se incrementó de 16 episodios a 31 episodios por 1000 ingresos, con un incremento anual de 0.83 episodios por 1000 ingresos.

Otro parámetro a tener en cuenta en la epidemiología de las bacteriemias es el origen comunitario, nosocomial o relacionado con la asistencia sanitaria de las mismas. Así encontramos que globalmente entre el 18 y 61% son consideradas comunitarias, el 24 al 37% relacionadas con los cuidados sanitarios y entre el 25 y el 41% nosocomiales [28,35–40], estas diferencias tan marcadas entre los distintos estudios pueden estar relacionadas con el tipo de centro en el que se desarrolle el mismo (terciarios vs comarcales) o la propia definición.

1.2.3. Etiología de las bacteriemias.

Otro aspecto importante a considerar es el patógeno causante de la bacteriemia, muy relacionado con lo discutido en el epígrafe anterior referente al lugar de adquisición de la bacteriemia.

Una gran variedad de bacterias pueden ser causantes de bacteriemia, tales como: *Staphylococcus aureus*, Staphylococos coagulasa negativos, *Streptococcus pneumoniae*, otros streptococos, *Enterococcus spp.*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, otros no fermentadores y anaerobios. Hongos, predominantemente del género *Candida*, también pueden ocasionar bacteriemias, denominada en este caso candidemia.

Dejando de lado por un momento el lugar de adquisición de la bacteriemia, según el registro europeo de vigilancia epidemiológica [41] (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) *E. coli* es el patógeno que más frecuentemente ocasiona bacteriemia, con una incidencia creciente en los últimos años en Europa, por delante de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*. Pero este predominio actual de *E. coli* como patógeno individual en Europa no ha sido así en décadas previas. Como grupo, las bacterias Gram-positivas predominaron en la década de 1980 debido al incremento de infecciones estafilocócicas relacionadas con catéteres vasculares [42], sin embargo, recientemente, en algunas instituciones, las bacterias Gram-negativas han incrementado su frecuencia, causando un número similar de casos [33,35,43].

Cuando se tiene en cuenta el lugar de adquisición de la bacteriemia la etiología de la misma cambia, como se puede apreciar en la Tabla 3. Así parece claro que algunos microorganismos, tales como *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter spp.*

y *Candida spp* muy pocas veces son causa de bacteriemias comunitarias. Y al revés, patógenos como *S. pneumoniae* rara vez es causante de bacteriemia de origen nosocomial. *E. coli* fue el microorganismo más frecuente en bacteriemias comunitarias, seguido por *S. pneumoniae* y *S. aureus*. *E. coli* y *S. aureus* fueron los dos organismos más frecuentes en bacteriemia relacionada con los cuidados sanitarios. Finalmente, los *Staphylococcus* coagulasa negativos fueron los microorganismo más frecuentemente encontrados bacteriemias nosocomiales, seguidos por *S. aureus* y *E. coli*.

Tabla 3. Etiología de las bacteriemias en función del lugar de adquisición.

Microorganismo	Origen Comunitario (%)	Relacionado con la asistencia sanitaria (%)	Origen nosocomial (%)
Bacterias Gram-positivas aerobias	44–45	38–48	48–50
<i>Staphylococcus aureus</i>	4–17	9–25	10–29
S. Coagulasa-negativo	0–5	3–27	16–38
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7–18	2–6	0–2
<i>Enterococcus</i>	1–3	3–4	5–10
Bacterias Gram-negativas aerobias	48–57	43–65	38–50
<i>Escherichia coli</i>	25–53	8–36	6–20
<i>Enterobacter</i>	0	4	4
<i>Klebsiella</i>	4–8	3–7	3–8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0–2	3–9	3–9
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	1	5
Bacterias Anaerobias	3–4	1–2	1–2
<i>Candida spp</i>	0	0	2-3
Bacteriemias polimicrobianas	3–5	6–8	6–8

Tomado de [28,35,37,38,44]

1.2.4. Bacteriemias por *E. coli*

Dentro de los múltiples patógenos que pueden ocasionar infección del torrente circulatorio, de forma primaria o secundaria, de origen nosocomial o comunitario, hemos revisado previamente que en los primeros puestos se encuentra *E. coli*, por lo que discutiremos a continuación de forma individual su epidemiología y otros aspectos de interés para el presente trabajo.

E. coli es el bacilo Gram negativo que con más frecuencia ocasiona infecciones en el ser humano, además es la causa de la mayor parte de las bacteriemias de origen

comunitario y del 20% de las de adquisición nosocomial, aunque estos datos proceden fundamentalmente de hospitales universitarios o terciarios, también tenemos datos que confirman este patógeno en hospitales de tamaño más pequeño [45]. Estudios españoles llevados a cabo en centros de pequeño tamaño [46,47] confirman también que *E. coli* es la etiología predominante de los episodios bacteriémicos, con origen más frecuente en el tracto urinario en personas tanto previamente sanas como con enfermedades de base.

1.2.4.1. Epidemiología de las bacteriemias por *E. coli*

El gran estudio epidemiológico de base poblacional de Laupland *et al* [48] llevado a cabo en la región sanitaria canadiense de Calgary, de 1,2 millones de habitantes, entre los años 2000 y 2006, mostró una incidencia de bacteriemias por *E. coli* en toda la población de 30 episodios por 100000 habitantes y año.

El registro europeo dependiente de la ECDC [41], en su última actualización publicada en 2012 registró más de 32.000 casos de bacteriemia por *E. coli*, entre los años 2002 y 2008, bastante por encima de los casi 19000 episodios de bacteriemia por *S. aureus* recogidos en el mismo periodo y centros. La incidencia a lo largo del periodo de seguimiento mostró un incremento anual del 8,1%.

En referencia a la distribución por edad y por sexos de los episodios de bacteriemia por *E. coli*, en la serie de Laupland *et al* [48] encontramos una curva de incidencia que se muestra en la Figura 7, que si excluimos los niños inferiores a un año, es creciente con la edad, y similar entre ambos sexos excepto entre los 20 y 50 años en que predominan los casos entre las mujeres.

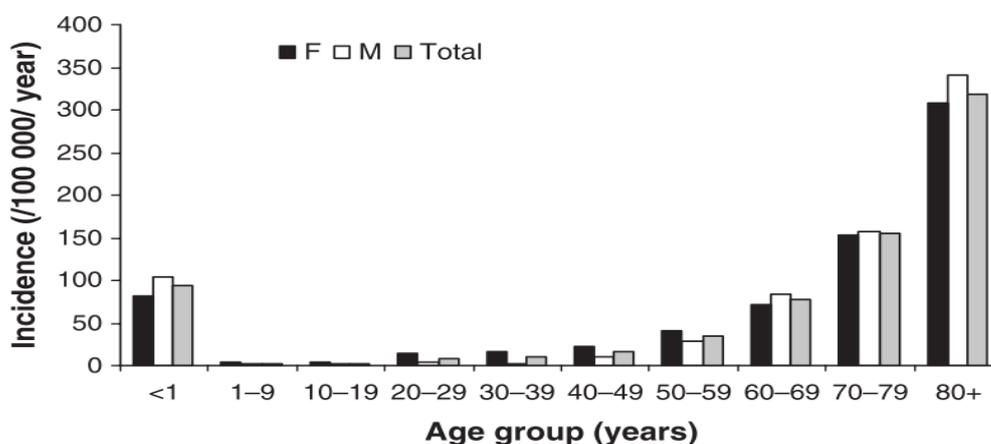


Figura 7. Incidencia según edad y sexo de bacteriemia por *E. coli* en la región sanitaria de Calgary, Canadá. Fuente: Laupland KB *et al*. Clinical microbiology and infection. 2008 [48].

Otro determinante epidemiológico muy importante y en progresivo aumento son las resistencias a los antimicrobianos. Según los datos recogido por la ECDC [41] el incremento de la incidencia de las bacteriemias por *E. coli* en Europa es fundamentalmente a expensas de las cepas resistentes a los antimicrobianos. Así encontramos que entre los años 2002 y 2008 en incremento anual de resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (G3CR en la Figura 8) fue del casi 30%, a las fluorquinolonas (FQR en la Figura 8) del 19,3%, a los aminoglucósidos (AminoR en la Figura 8) del 17.2%, y a las aminopenicilinas (AmipnR en la Figura 8) del 11,1%. De esta forma solo un 6% del incremento de la incidencia entre los años 2002 y 2008 correspondía a cepas de *E. coli* sensibles a todos los antimicrobianos. Este aspecto epidemiológico del incremento progresivo de las resistencias a antimicrobianos se aprecia de forma más gráfica en la Figura 8.

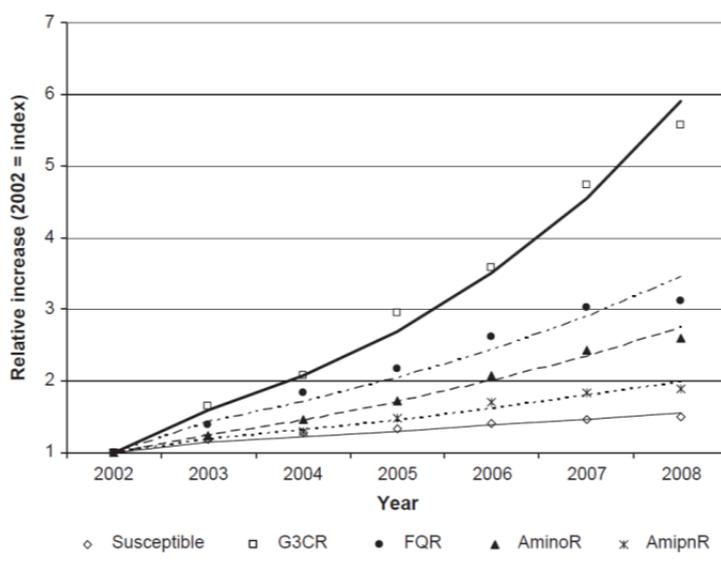


Figura 8. Aumento relativo en el número de aislamientos de *E. coli* con fenotipo de resistencia diferentes. Fuente: De Kraker ME *et al.* Clinical microbiology and infection. 2012 [41].

1.2.4.2. Origen y foco de las bacteriemias por *E. coli*

El estudio poblacional canadiense [48] mostró que del total de 2368 episodios registrados el 15% era nosocomial, el 32% relacionado con la asistencia sanitaria y el 53% de origen comunitario. La evolución temporal de este dato mostró un aumento de la incidencia de casos relacionados con la asistencia sanitaria entre los años 2000 y 2006, aunque no significativo.

Estudios españoles de prevalencia [49] e incidencia [50] señalan a *E. coli* como causa del 21% y 29% de bacteriemias adquiridas en la comunidad y del 8,3% y 14,4% de las nosocomiales respectivamente.

Respecto al foco origen de la bacteriemia el 45% de los casos recogidos en la región canadiense de Calgary [48] eran de origen urinario confirmado con muestra simultanea o próxima en el tiempo con la de sangre. Dado que el estudio no evaluaba clínicamente a los pacientes, el dato del foco de la bacteriemia se obtuvo en base a muestras microbiológicas simultaneas o próximas en el tiempo y con aislamiento del mismo *E. coli*, con lo que aunque es relativamente fácil y fiable el dato del 45% de origen urinario, el resto de focos resulta menos consistente, haciendo referencia a tan solo 25 casos de foco intrabdominal, 21 casos de foco respiratorio, 5 de piel y partes blandas, 3 de osteoarticulares y 2 de sistema nervioso central.

En otras series, de base no poblacional, encontramos más datos referentes al foco de bacteriemia. En una serie hospitalaria danesa [51], el 71% de los caso eran de origen urinario, y el 14% de origen biliar. En el caso de bacteriemias por *E coli* productora de BLEE, el 46% de los casos eran de origen urinario y el 21% de origen biliar en una serie española [39], similar al 44% urinario, 34% abdominal y 5% respiratorio de otra serie holandesa [52] de similares características microbiológicas.

Con estos datos podemos decir que los focos más frecuentes de origen de la bacteriemia por *E. coli* son el urinario y el abdominal, principalmente de vía biliar. El foco urinario puede estar minimizado en las series de base hospitalaria dado que en muchas ocasiones este puede no precisar ingreso.

1.2.4.3. Mortalidad asociada a bacteriemias por *E. coli*

La mortalidad de la bacteriemia por *E coli* tiene una importante variabilidad entre los distintos estudios publicados, variando entre el 5 y el 30%, debido fundamentalmente a diferencias de diseño y de paciente incluidos en cada uno de ellos [47,48,51,53–65].

En la serie poblacional de Laupland *et al* [48] la mortalidad global fue del 11%, encontrando un mayor riesgo con el aumento de la edad, la resistencia a ciprofloxacino, el foco distinto del urinario, y la mayor comorbilidad asociada. Del mismo modo, y en

el mismo estudio, la adquisición comunitaria y el foco urinario se relacionaron de forma significativa con un menor riesgo de muerte por bacteriemia por *E. coli*. Series europeas de casos hospitalarios de bacteriemia por *E. coli* recogen mortalidades entre el 12 y el 21% [51,63,65].

Un estudio importante desde el punto de vista del análisis pormenorizado de la mortalidad es el llevado a cabo en el entorno europeo de la ECDC y la EARSS por Kraken *et al* [64], que introduce como parámetro además de la mortalidad, el incremento en gasto sanitario y económico asociado a las crecientes resistencias a antimicrobianos de *E. coli*.

En base a las estimaciones de prevalencia del estudio de la EARSS, en 2007 se estimó un exceso de mortalidad a 30 días en los casos de bacteriemias por *E. coli* resistente a cefalosporinas de 3ª generación de 2712 muertes de un total de más de 15.000 episodios, con un incremento de las estancias hospitalarias de 120.000 días. Suponiendo todo ello un coste atribuible por el exceso de estancia hospitalaria de 18.1 millones de Euros (29.7 millones de dólares internacionales).

1.3. *Escherichia coli*

En 1885 Theodore Escherich, pediatra y bacteriólogo alemán (Ansbach, 1857-Viena, 1911), describió por primera vez una bacteria en las heces de neonatos y niños sanos que denominó *Bacterium coli commune* [66]. Posteriormente, en 1919 Castellani y Chalmers la denominaron *Escherichia coli* en honor de su descubridor y desde entonces ha sido uno de los seres vivos más estudiados.

La taxonomía actual sitúa a *Escherichia. coli* en el Dominio Bacteria, Filo Proteobacteria, Clase Gammaproteobacteria, Orden Enterobacteriales, Familia Enterobacteriaceae, Género *Escherichia* y especie *E. coli*.

En cuanto a sus principales características microbiológicas, podemos resumir que se trata de una bacteria gram negativa, anaerobia facultativa, de aproximadamente 1,1 – 1,5 µm de diametro por 2,0 – 6,0 µm de largo que se dispone aislada o en parejas, de metabolismo fermentativo y respiratorio, desprovista de oxidasa y que produce catalasa y betagalactosidasa.

E. coli es un microorganismo marcadamente diverso, que convive como comensal en la flora intestinal de mamíferos y aves [67]. Para pasar de comensal a patógeno, *E. coli* necesita adquirir una combinación de elementos genéticos móviles, que le convierten en un patógeno adaptado capaz de causar una gran variedad de enfermedades, desde diversos tipos de diarreas a infecciones extraintestinales tales como urinarias, de sistema nervioso central o bacteriemias [68]. La mayoría de las cepas pese a todo no son patógenas, y no solo conviven en el intestino humano sin ocasionar daño sino que algunas incluso lo benefician sintetizando cofactores y hasta lo protegen de la invasión por microorganismos patógenos [69].

La carga mundial de enfermedades producidas por *E. coli* es enorme, con cientos de millones de personas afectadas anualmente. Esta amplia distribución mundial y su importante carga de enfermedad intestinal y no intestinal han hecho que el estudio biológico del patógeno sea extenso y a día de hoy tengamos amplios conocimientos sobre *E. coli* [61,70].

La ultraestructura de *E. coli*, común a la gran mayoría de las enterobacterias, está formada como se aprecia en la Figura 9 por: membrana interna, espacio periplásmico, pared celular de peptidoglucanos, membrana externa, lipopolisacarido, cápsula y otros polisacáridos de superficie, flagelos y fimbrias (o *pili*); todo ello rodeando el citoplasma que contiene el material genético organizado en cromosómico y extracromosómico o plasmídico y las organelas.

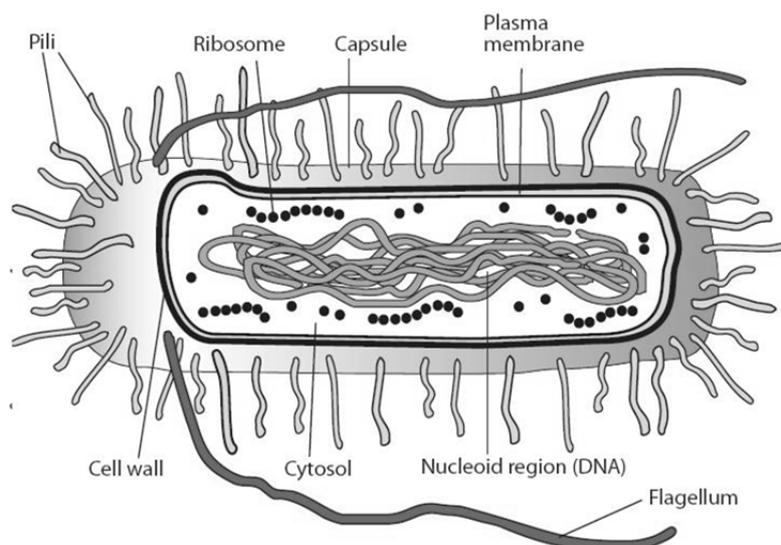


Figura 9. Ultra-Estructura microscópica esquemática de *E. coli*. Tomado de <http://biology4ib.wikispaces.com/2.2+Prokaryotic+Cells>

E. coli típicamente coloniza el tracto gastrointestinal en las primeras horas de vida del recién nacido, se adhiere al moco que recubre el intestino grueso y una vez establecida una misma cepa puede persistir indefinidamente. Desde el principio se establece una relación simbiótica de mutuo beneficio entre estas cepas comensales de *E. coli* y el huésped que dura años [69,71], formando parte de la microbiota intestinal. Sin alteraciones de la barrera mucosa gastrointestinal o situaciones de inmunosupresión raramente estas cepas comensales ocasionaran infección.

El papel de esta microbiota intestinal hoy día se considera fundamental, estando involucrando en múltiples patologías [72,73] como la obesidad [74–76], la diabetes mellitus [75–77], enfermedades hepáticas [78,79], la enfermedad inflamatoria intestinal [80–82] e incluso el cáncer de colon [83].

E. coli forma parte de la microbiota intestinal, formada por más de 500 especies de bacterias distintas, lo que suma una cantidad entre 10^{10} y 10^{11} de células bacterianas por gramo de contenido intestinal. Aunque las bacterias anaerobias superan en número a *E. coli* en una proporción entre 100/1 y 10,000/1 [84], *E. coli* es la bacteria aerobia predominante, pudiendo llegar a más de un billón de células de *E. coli* [85]. Pese a esta alta colonización del tracto gastrointestinal por múltiples bacterias, parece que *E. coli* es el competidor más exitoso, debido, según algunas hipótesis, a la alta capacidad que tiene para usar el gluconato, permitiéndole ocupar un nicho metabólico específico [86–88].

Pero a pesar de esta enorme adaptación con el huésped, ciertos clones de *E. coli* adquieren múltiples atributos de virulencia que les confieren la capacidad de adaptarse a nuevos nichos ecológicos y ocasionar un amplio espectro de enfermedad. Estos atributos patogénicos están codificados habitualmente en elementos genéticos móviles (plásmidos, trasposones, islas de patogenicidad) que en algunas ocasiones pueden evolucionar e incorporarse al genoma [89]. Sólo las combinaciones genéticas de factores de virulencia más eficaces han persistido convirtiéndose en patotipos capaces de generar infección clínica en personas previamente sanas, a diferencia de las cepas de *E. coli* que conviven de forma simbiótica en el colon humano como parte de la flora intestinal.

Los patotipos de *E. coli* producen los 3 grandes síndromes clínicos: entéricos/diarreogénicos, ITUs y sepsis/meningitis [89,90]. Podemos distinguir ocho patotipos de *E. coli* bien caracterizadas, con un gran arsenal de factores de virulencia

capaz de subvertir las funciones celulares del huésped para potenciar su virulencia. En función de si producen enfermedad intestinal (cepas diarreogénicas) o extraintestinal distinguimos dos grandes grupos, además de estos existen otros patotipos con mecanismos patogénicos no tan establecidos. Los patotipos identificados hasta la fecha son:

1. Causantes de cuadros de diarrea:

- *E. coli* eenteropatogenico (EPEC, de sus siglas en inglés),
- *E. coli* enterohemorragico (EHEC, de sus siglas en inglés),
- *E. coli* enterotoxigenico (ETEC, de sus siglas en inglés),
- *E. coli* enteroinvasivo (EIEC; de sus siglas en inglés, grupo que incluye *Shigella*),
- *E. coli* enteroagregativo (EAEC, de sus siglas en inglés)
- *E. coli* difusamente adherente (DAEC, de sus siglas en inglés)

2. Causantes de cuadros extraintestinales (EXPEC, de sus siglas en inglés)

- *E coli* uropatogenico (UPEC, de sus siglas en inglés)
- *E coli* relacionado con meningitis neonatal (NMEC, de sus siglas en inglés)

3. Otros patotipos con mecanismo patogénico no tan establecido

Esta clasificación en patotipos no está exenta de implicaciones clínicas. Los patotipos diarreogénicos pueden producir diarrea pero rara vez producen enfermedad fuera del tracto gastrointestinal. Por el contrario, ExPEC mantiene la capacidad de colonizar el tracto gastrointestinal sin consecuencias clínicas para el huésped, pero al mismo tiempo puede diseminar y colonizar otros nichos del huésped como el torrente circulatorio, el sistema nerviosos central y el tracto urinario, produciendo de ese modo infección a dichos niveles [91].

UPEC, el principal patotipo del grupo ExPEC, es el causante del 70-95% de las ITUs comunitarias y hasta el 50% de las nosocomiales [92] con una considerable carga económica y en salud a nivel mundial. Se cree que el reservorio primario de UPEC es el tracto intestinal humano, y que la cepa concreta responsable de la ITU de un individuo concreto se puede aislar de la flora intestinal de esa misma persona [93].

Otro elemento de interés es la superficie externa de *E. coli*, muy importante porque supone el contacto con el huésped y su capacidad antigénica (Figura 10). En función de estas estructuras encontramos la clasificación más tradicional de *E. coli*, los serogrupos basados únicamente en el antígeno O o antígeno del lipopolisacárido, y los serotipos que se componen de combinaciones específicas de los antígenos O (dependientes del lipopolisacárido), H (de origen flagelar) y K (de origen capsular) [89]. Existen en este momento descrito en *E. coli* más de 170 serogrupos distintos de antígeno O, más de 80 de antígeno K y 54 de antígeno H [94].

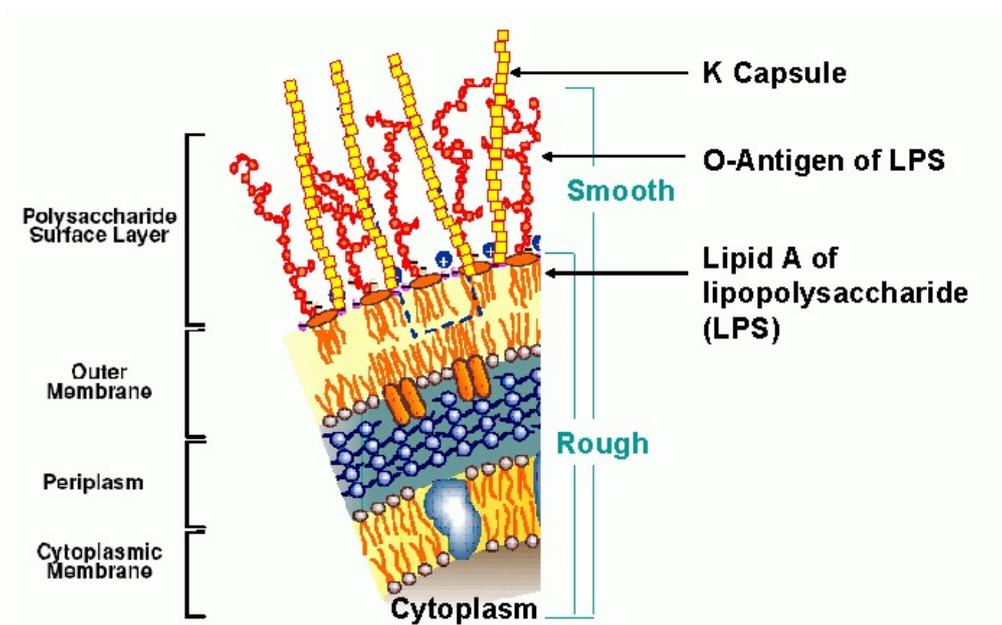


Figura 10. Pared externa de *E. coli*. Modificado de Alexander C, Rietschel ET. Journal of endotoxin research. 2001[95].

Los distintos patotipos de *E. coli* tienden a ser clonales caracterizados por compartir los antígenos O (serogrupos) u O y H (serogrupos) [89], dado que les confieren particularidades adaptativas a la infección predominante de cada patotipo. Por poner un ejemplo, el antígeno capsular K1 se asocia típicamente a las cepas de ExPEC que causan meningitis neonatal (NMEC). Parece que la expresión de K1 protege a la célula bacteriana de la respuesta inmune mediada por complemento y de los bacteriófagos además de mejorar su supervivencia a nivel del endotelio de la microvascularización cerebral facilitando la evasión de la fagocitosis [96–100]. Pero esta no es la única asociación entre serotipos y patotipos, existen listados completos, que sólo mencionaré sucintamente. [101–103].

Los análisis filogenéticos han puesto de manifiesto que *E. coli* está distribuido en 4 grupos filogenéticos mayoritarios (A, B1, B2 y D) [104,105] y los grupo E y F recientemente descritos [106–108]. ExPEC pertenece con más frecuencia al grupo B2 y en menor medida al grupo D [109–112], mientras que las cepas comensales generalmente pertenecen al grupo filogenético A o al B1 [112]. El grupo filogenético B2 es el que porta mayor número de factores de virulencia en su material genético [112].

1.3.1. Diversidad genética de *E. coli*

La pérdida o ganancia de elementos genéticos móviles es el elemento clave para conformar el genoma de una bacteria patogénica. La transferencia horizontal de genes es el mecanismo más importante por el que se diseminan los nuevos rasgos patógenos que condicionan ventajas evolutivas a las bacterias [113]. Este material genético móvil y transferible puede organizarse en las llamadas islas de patogenicidad, que son clusters de genes de virulencia que pueden encontrarse en plásmidos o integrados en el cromosoma bacteriano. Estas islas de patogenicidad no se encuentran en las bacterias comensales. Otros elementos genéticos móviles lo conforman los bacteriófagos, plásmidos, trasposones y secuencias de inserción [89,114].

La adición, delección u otros cambios genéticos sobre una cepa comensal de *E. coli* puede darle la capacidad patogénica de producir diarrea (EPEC, EHEC, EAEC DAEC), disentería (EIEC), síndrome hemolítico urémico (EHEC), infección urinaria (UPEC) o meningitis (MNEC) (Figura 15).

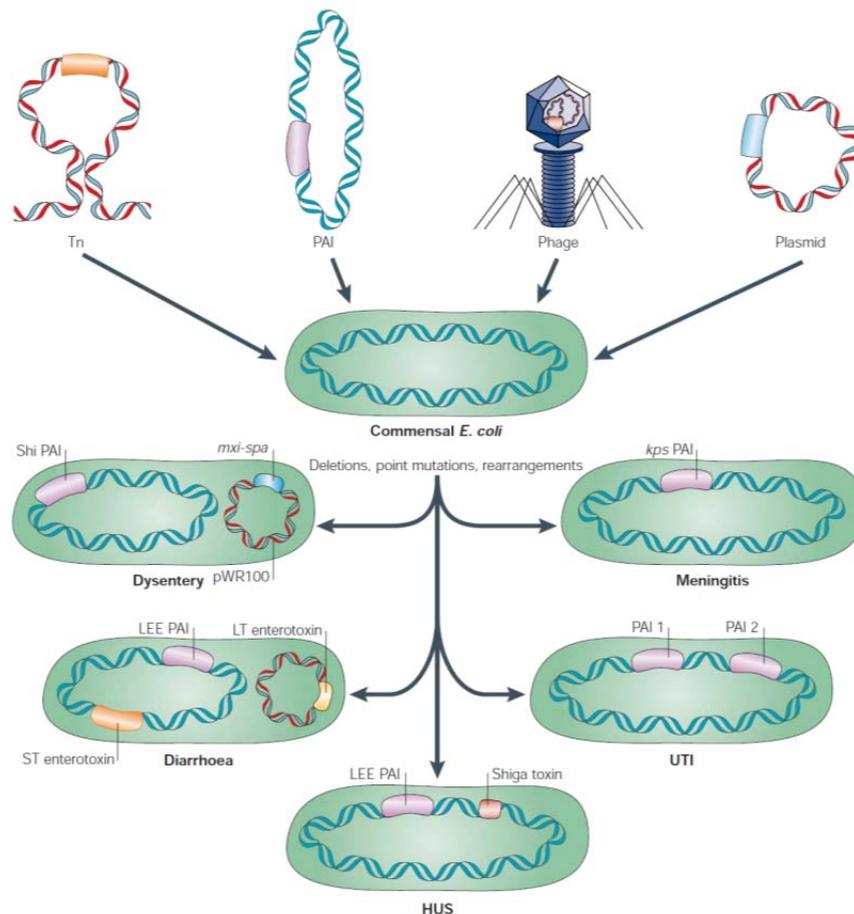


Figura 11. Contribución de los elementos genéticos móviles a la evolución del *E. coli* patagénico. Fuente: Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Nature reviews. Microbiology. 2004 [89].

El genoma de las cepas de *E. coli* patagénico es muy diverso y puede ser mucho mayor que el de las cepas comensales, debido fundamentalmente a la adquisición de islas de patogenicidad y otros materiales genéticos accesorios. La secuencia genómica de *E. coli* está formada por un core central de aproximadamente 2200 genes comunes a todas las cepas y un genoma total que puede llegar a los 13000 genes [85,115]. Pero resulta sorprendente que aunque la gran mayoría de *E. coli* patogénicos tienen más de 5000 genes, menos de la mitad de ellos corresponden con ese material core común. Esto permite la gran diversidad genética de los aislados patógenos, así como su enorme plasticidad [114].

A la vez que una ventaja para *E. coli* como patógeno, esta variabilidad genética tan importante dificulta los estudios clínicos que pretenden asociar alguna variable concreta bacteriana con hechos clínicos relevantes. Esta dificultad ha ocasionado que se apliquen las tecnologías de detección de polimorfismo de nucleótido simple (SNP, de sus siglas en inglés, Single Nucleotide Polymorphism) para el estudio de la diversidad genética, así como de su evolución filogenética.

El análisis de SNP es la detección de la variación en la secuencia de ADN que afecta a una única base de una secuencia del genoma. Estas mutaciones deben ocurrir en al menos el 1% de la población para que sean consideradas SNPs y no mutación puntual. Cuando determinados SNPs coinciden en varias cepas distintas se puede decir que comparten el perfil alélico, lo que en inglés se ha denominado SAP (SNP allelic profile). La metodología para llevar a cabo estos estudios es compleja y excede al objetivo de esta tesis [108,116,117].

Con estos estudios se obtienen distintos SAPs que arbitrariamente se numeran según los datos recogidos en la base de datos del University College of Cork (Irlanda), disponible en <http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli> [116]. Uno de los SAPs más conocido por resultar un clon de distribución mundial que porta los genes de betalactamasas CTX-M14 y CTX-M15 es el ST131, que se corresponde con el serotipo O25b:H4, correspondiente al grupo filogenético B2 [118].

Con toda esta tecnología disponible para la secuenciación genética y el estudio poblacional [108], y aquella que está por llegar [119] disponemos actualmente de numerosos datos que apoyan la gran diversidad genética y evolutiva de *E. coli* [85,106,108,115,116,120].

1.3.2. *E. coli* como patógeno extraintestinal

E. coli es el la especie aeróbica predominante en la flora del colon humano, pero cuando escapa de su hábitat gastrointestinal puede ocasionar enfermedad clínica. Desde el colon puede invadir la pared y producir una bacteriemia de ese origen o a través de la piel perineal acceder por contigüidad y vía ascendente al tracto urinario y proliferar ahí, produciendo la clínica más frecuente extraintestinal de *E. coli*, la ITU [121]. La ITU se produce con más frecuencia cuando existe alguna alteración mecánica de la vía urinaria o en su control neurológico [122]. Asimismo este cambio de comensal a patógeno se observa en el tracto urinario, especies de *E. coli* aisladas de pacientes con bacteriuria asintomática difieren de cepas de *E. coli* aisladas de pacientes con pielonefritis, fundamentalmente en la capacidad de adhesión y exfoliación de las células del epitelio urotelial [123].

Todas las cepas de *E. coli* patógeno comparten unas estrategias de virulencia para atacar al huésped. La primera de ella es la adhesión al huésped, necesaria para todos los patotipos excepto el EISC. La adhesión esta mediada frecuentemente por las fimbrias o *pili*. Después de la adhesión a la célula huésped, *E. coli* debe superar los fenómenos celulares defensivos, habitualmente a través de secreción de proteínas. Con todo ello *E. coli* logra modificar las vías de señalización intracelular de la célula huésped, invadiéndola y evitando la respuesta inmune, con lo que logra la colonización y posteriormente el desarrollo de la clínica [114]. Cada patotipo tiene luego particularidades patogénicas adaptadas al medio en el que mayoritariamente produce la infección, por poner un ejemplo las toxinas ST y LT son propias del *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), colaborando en la producción de diarrea acuosa profusa mediante la inducción de GMP cíclico que interfiere en los mecanismos de transporte iónico de las células entéricas [114].

Adhesión

Si nos centramos en los mecanismos patogénicos de *E. coli* extraintestinal uropatogénico (UPEC), el primer paso para la infección de la célula huésped es la adhesión a la misma. Esta adhesión puede estar mediada por las fimbrias, también llamadas *pili*, aunque también existen mecanismos de adhesión independientes de estas estructuras como las adhesinas afimbriales [89]. Aunque se consideraba que las adhesinas afimbriales carecían de estructuras móviles, en recientes trabajos se ha evidenciado que aunque menores *afa*, una de las clasificadas como adhesinas afimbriales, puede tener finas estructuras fibrilares [124].

Las fimbrias o *pili* son apéndices superficiales que juegan un papel fundamental en la adhesión bacteriana a la célula huésped y en el intercambio genético mediante conjugación. Existen varios tipos de fimbrias en *E. coli*: fimbrias tipo 1, fimbrias P, fimbrias Dr, fimbrias S. Todas ellas comparten el mecanismo fundamental de ensamblaje a partir del complejo chaperona-acomodador a partir del cual se conforma la estructura proteica larga y filamentosa polimérica producto de la unión de las distintas subunidades mayores y menores que la forman [125] que permitirán la unión a receptores celulares específicos, ubicados de forma extensa en el sistema urinario, como podemos apreciar en la Figura 11.

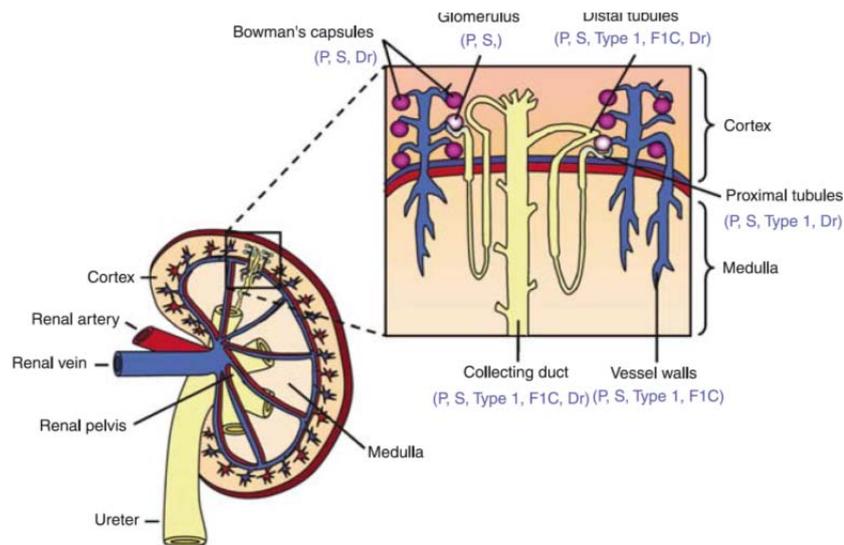


Figura 12. Corte de riñón humano mostrando los lugares de adhesión de las distintas fimbrias de UPEC.

Fuente: Lane MC, Mobley HLT. *Kidney international*. 2007 [126].

Probablemente una de las fimbrias mejor caracterizadas sean las fimbrias P, por lo que es apropiado que la usemos a modo de ejemplo de la síntesis de las fimbrias por parte de la célula bacteriana. Siguiendo el esquema de la Figura 12 podemos apreciar como a partir de la maquinaria Sec de la membrana interna las distintas subunidades de la fimbria son traslocadas al espacio periplásmico. En el espacio periplásmico, mediado por el complejo chaperona-acomodador las subunidades mayores y menores, en el orden adecuado son traslocadas a la membrana externa donde se secretan y se ensamblan de forma ordenada para conformar la estructura helicoidal móvil [125]. Como vemos en la tabla estas proteínas están codificadas por distintos genes según se trate de las fimbrias P o los *pili* tipo 1. Esta maquinaria de síntesis de las fimbrias es común a los distintos tipos que *E. coli* puede exhibir como mecanismos de adhesión [91,125,127–129].

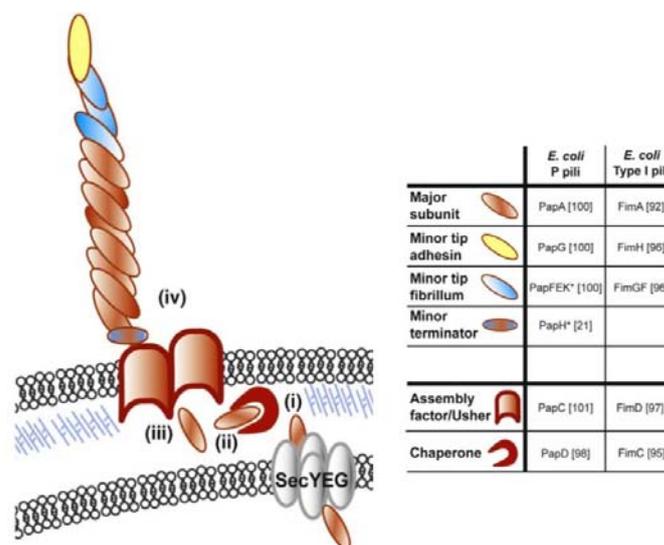


Figura 13. Estructura de Fimbrias P. Fuente: Kline K *et al.* *Trends in microbiology*. 2010 [125].

Las fimbrias de la superficie celular bacteriana están diseñadas para la adhesión e invasión de la célula huésped, lo que desencadena otros mecanismos de daño celular mediado por toxinas. Podemos profundizar en este aspecto describiendo este proceso de los *pili* tipo 1. Como se puede apreciar con detalle en la Figura 13, el primer paso es la adhesión de los *pili* tipo 1 a los receptores uroplakin Ia y IIa de la célula huésped, lo que estimula distintas vías de señalización intracelular que median la invasión y la apoptosis celular. La unión de esos mismos *pili* tipo 1 a las integrinas $\alpha 3\beta 1$ también media la internalización de la bacteria en las células de la capa superficial del epitelio urotelial formando comunidades bacterianas intracelulares (IBCs en la figura) [114].

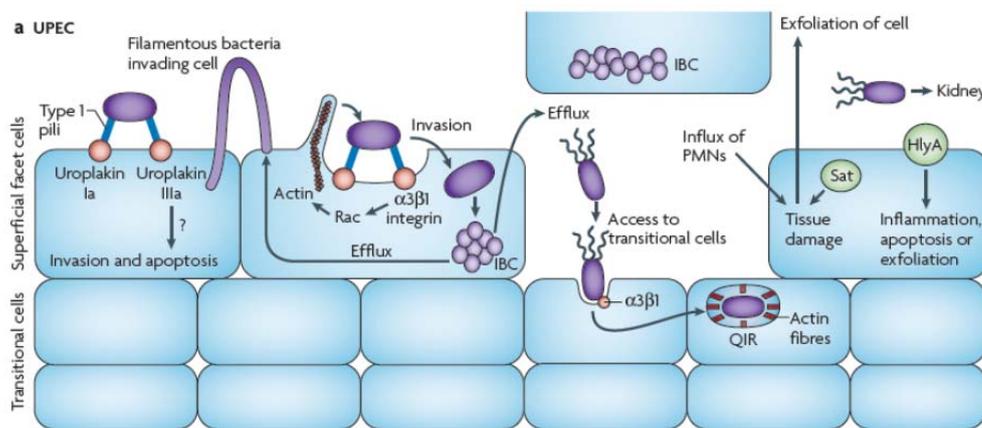


Figura 14. Mecanismo patogénico de *E. coli* uropatogénico (UPEC). Fuente: Croxen M, Finlay BB. Nature reviews. Microbiology. 2010 [114].

Toxinas

Después de la adhesión, ExPEC exhibe otras estrategias de patogenicidad mediada por toxinas. Entre ellas está la toxina haemolisina A que puede producir en cantidades pequeñas y subléxicas poros en la membrana celular que junto con la inhibición de las proteínas Akt llevan a la apoptosis y exfoliación de la célula epitelial infectada. Esta exfoliación de la primera capa del epitelio permite que las subsiguientes capas celulares queden expuestas a nueva invasión por parte de UPEC, pudiendo quedar incluso como partículas quiescentes dentro de la célula que permitan la recidiva posterior de la infección [114]. Hemolisina A además de sobre las células uroteliales también puede producir dicho efecto toxico en leucocitos polimorfonucleares, con lo que asociado al daño de la mucosa urotelial se suma la inhibición de las defensas celulares del huésped [122].

Al ser generalmente moléculas grandes las toxinas para atravesar la pared bacteriana necesitan de sistemas de transporte, que en el caso de *E. coli* suelen ser los sistemas de secreción tipo I [91]. Pero existen otro sistema de secreción, el tipo V, también denominado de toxinas autotransportadas. A este grupo pertenecen las toxinas Sat y Vat que inducen la vacuolización y el daño tisular en la célula huésped [130]. Otra forma de transporte al exterior de la célula bacteriana es mediado por vesículas de membrana externa que pueden exteriorizar toxinas como el factor citotóxico de necrosis y la hemolisina A [131,132].

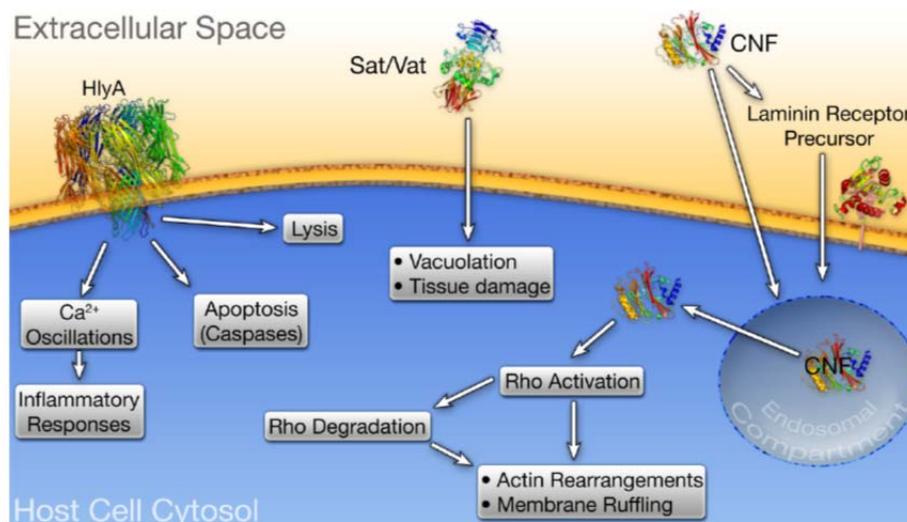


Figura 15. Modelo de acción de CNF, Sat/Vat e HlyA sobre la célula huésped. Fuente Wiles T, Kulesus R, Mulvey MA. Experimental and molecular pathology. 2008 (75).

Sistemas de adquisición del hierro

El hierro resulta esencial para múltiples de los fenómenos celulares que tienen lugar tanto en células procariontas como eucariotas, pero el hierro libre en los mamíferos es un bien escaso en la sangre y más escaso todavía en otros tejidos [133,134]. Para su crecimiento las células bacterianas necesitan unas concentraciones relativamente altas de hierro citoplasmático [135], por lo que en su lucha por la supervivencia las bacterias patógenas van a establecer una lucha constante con la célula huésped por este elemento [135,136]. De este modo las bacterias patógenas, incluyendo *E. coli* en sus patotipos ExPEC, y más específicamente UPEC, han desarrollado estrategias para obtener hierro del huésped. Entre estas incluye los sideróforos y sus receptores. Los sideróforos son estructuras con alta avidéz por el hierro libre, con función similar a lo que supone la transferrina para los mamíferos, que son secretadas al ambiente para la captura y quelación del hierro para su uso por la célula bacteriana [134].

Un ejemplo de esta competición la podemos observar en la interacción de enterobactina y lipochalina. El sideróforo enterobactina secuestra el hierro libre por el que tiene alta afinidad. Asimismo la célula huésped a través de la lipochalina 2 se une a la enterobactina cargada de hierro impidiendo que UPEC incorpore ese hierro al interior celular para su uso. Pero cuando UPEC exhibe el gen *ireA*, esta enterobactina se modifica por glucosilación impidiendo que tras la captación del hierro sea reconocida por lipochalina 2, pasando de este modo al interior de la célula bacteriana con su valiosa carga [91,137,138].

Pero enterobactina no es el único sistema de obtención de hierro que exhibe ExPEC. UPEC en particular expresa múltiples sistemas de adquisición de hierro que parecen redundantes, tales como los sideróforos salmochelina, aerobactina y yersiniabactina [91] pero que resultan fundamentales en un ambiente escaso de hierro y con un huésped también ávido de él. Algunos de estos mecanismos, como yersiniabactina se encuentran regulados al alza en el crecimiento en forma de biopelículas que puede tener *E. coli* en torno a catéteres urinarios [139].

1.3.3. Factores de virulencia de *E. coli*

El concepto de factor de virulencia (FV) suscita entre los expertos un acalorado debate, no estando de acuerdo en si las estructuras o funciones indispensables para la enfermedad pero que no son específicas del patógeno o del proceso patológico deberían ser consideradas como tales. Parece que existe acuerdo en considerar FV según los postulados de Koch replanteados por Falkow [140] como aquellos rasgos microbianos que se encuentran en un patógeno que ocasiona enfermedad, y cuyos cambios genéticos por mutación en modelos animales ocasiona una enfermedad menos severa que recupera esta severidad cuando se repara el alelo del tipo salvaje del gen mutado.

Todos estos FV, con las consideraciones conceptuales descritas, se pueden apreciar en las fases que los patógenos precisan para lesionar la célula huésped, que como hemos destacado en los apartados previos son la adhesión, entrada, establecimiento y multiplicación celular.

Por todo ello en muchas de las referencias bibliográficas que constan en esta tesis no hablan de FV sin poner el adjetivo putativo delante, porque resulta difícil diferenciar si los genes analizados y sus proteínas correspondientes son FV reales según

los postulados de Koch modificados a la biología molecular moderna o tan solo son factores patogénicos necesarios para la supervivencia de *E. coli*, dado que existen muy pocos estudios en modelos animales para corroborar la hipótesis.

Todos los mecanismos patogénicos de ExPEC descritos en los apartados previos, han sido profundamente estudiados, en primera instancia para conocer su mecanismo patogénico y de forma secundaria, aunque probablemente más interesante desde el punto de vista clínico, en un intento por asociarlos a distintos focos, orígenes de la infección, gravedad clínica e incluso pronóstico.

Expuestas las reservas de si los factores de virulencia son elementos imprescindibles para la supervivencia de *E. coli* o factores de virulencia reales y sin querer ser exhaustiva, expondré brevemente a continuación los datos más relevantes en este tipo de asociaciones clínicas en relación a los genes estudiados en el presente trabajo de investigación (Tabla 4).

Las cepas de UPEC que expresan fimbrias P son productoras con más frecuencia de pielonefritis [126,141]. Acorde con estos datos, Moreno et al [142] encontraron que *papA* y *papGII* se asociaban a pielonefritis y bacteriemia de origen urinario, en comparación con los pacientes incluidos en el estudio con bacteriemia de origen no urinario. En el mismo estudio observaron que *sfa/focDE* y *cnf1* eran más prevalentes entre los pacientes con bacteriemias de origen urinario respecto a aquellos con pielonefritis sin bacteriemia y bacteriemias de origen no urinario. Asimismo comparado con el foco biliar, los pacientes con ITUs altas tienen mayor prevalencia de los genes *hlyA*, *cnf1* e *iutA* [121]. En general las cepas causantes de ITU exhiben mayor número de FV que las de focos no urinarios [63]

También existen asociaciones de determinantes de *E. coli* con la capacidad de invasión vascular. La presencia de hemolisina y el antígeno capsular Ki se asocian con ITU bacteriémica en niños [143], lo que permitiría según los autores el paso a antibioterapia oral en ausencia de dichos factores. Wang et al [121] hallaron que además de la obstrucción de la vía biliar o la urinaria, la presencia de *papGII* podía jugar un papel en el desarrollo de bacteriemia secundaria a dichos focos.

Las cepas con menos número de FV producen infección en pacientes con algún tipo de factor predisponente a la misma (alteraciones de vía urinaria, sondaje, alteración neurológica), frente a las cepas más virulentas que no discriminan entre paciente con

factores de riesgo y sin ellos [144]. En el mismo sentido de factores de riesgo del huésped, se observó que las cepas causantes de pielonefritis que exhibían *papGII* se asociaban más a pielonefritis en pacientes inmunocompetentes que aquellos inmunocomprometidos [144].

La presencia de fimbrias P también parece estar relacionada con el origen comunitario de la infección. Skjøt-Rasmussen *et al* [65] hallaron una relación independiente entre *papAH* y el origen comunitario, y al contrario, los genes *kpsMII* e *hylD* se asociaron con el origen nosocomial. Los datos de Jauregui *et al* [145] apoyan la relación entre las fimbrias P y el origen comunitario, ya que en su estudio la presencia de *papC* y *papGII* se asociaron con el origen comunitario de la bacteriemia.

Johnson *et al* [146] diseñaron un trabajo para clarificar la asociación de determinantes genéticos de *E. coli* en el desarrollo de resistencias a antimicrobianos. Aunque las diferencias en la susceptibilidad a Trimetoprim-Sulfametoxazol y Ampicilina fueron mínimas, esto no era así para Ciprofloxacino. En esta serie de 100 aislados de *E. coli* de muestra urinaria de mujeres israelíes con cistitis no complicada encontraron que la resistencia a Ciprofloxacino se encontraba asociada al grupo filogenético no-B2 y la ausencia de FV, en particular la presencia de *papA*, *hylD*, *fyuA* y *malX* marcaba la susceptibilidad a dicho fármaco de forma significativa [146].

En este mismo sentido de la asociación con resistencia a antimicrobianos, los grupos filogenéticos A y B1 se asociaron con mayor frecuencia a resistencia a fluorquinolonas, mientras que el grupo B2 se asociaba con sensibilidad a esa misma familia de antimicrobianos [144].

Tabla 4. Genes de virulencia de *E. coli* y mecanismo celular en el que están involucrados

Genes de virulencia	Mecanismo celular
Adhesinas	
<i>pap C</i>	Fimbrias P
<i>pap G allele I</i>	Molécula de adhesina de la fimbria P, variante I
<i>pap G allele II</i>	Molécula de adhesina de la fimbria P, variante II
<i>pap G allele III</i>	Molécula de adhesina de la fimbria P, variante III
<i>afaB/C</i>	Adhesinas de la familia Dr
<i>fimH</i>	Fimbria tipo 1
<i>Iha</i>	Molécula bifuncional, receptor de enterobactina y adhesina
<i>sfa/foc DE</i>	fimbrias S y F1C
Toxinas	
<i>cdtB</i>	Toxina distensora de citoesqueleto
<i>cnf1</i>	Factor citotóxico necrosante 1
<i>hlyA</i>	Hemolisina A
<i>Sat</i>	Toxina secretada autotransportada
<i>Usp</i>	Proteína específica uropatogénica
Protectinas	
<i>kps MTII</i>	Síntesis de la cápsula del grupo II
<i>ompT</i>	Proteína de membrana externa T
Relacionados con la adquisición del Hierro	
<i>iron</i>	Receptor del catecol-sideróforo putativo
<i>fyuA</i>	Receptor yersiniabactina
<i>iutA</i>	Receptor aerobactina
<i>iucD</i>	Biosíntesis de aerobactina
<i>ireA</i>	Sideróforo/regulador del hierro de la membrana externa
Miscelanea	
<i>malX</i>	Marcador asociado a la isla de patogenicidad de la cepa CFT073
<i>Svg</i>	Subgrupo específico de virulencia
<i>ibeA</i>	Invasor del endotelio cerebral
<i>tratT</i>	Resistencia al suero asociada a una proteína de la membrana externa
<i>cvaC</i>	Receptor de colicina V

Solo mencionados aquellos genes estudiados en el presente estudio de investigación.

1.4. Factores de Virulencia en *E. coli* como predictores de gravedad clínica o mortalidad. Estado actual del problema

Previamente hemos revisado la gran cantidad de genes de virulencia de *E.coli* descritos y los diversos papeles que pueden o parecen jugar en la infección clínica, pero probablemente nos parezca más importante conocer la capacidad predictiva que pudieran tener de fenómenos tan graves en patología infecciosa como son el desarrollo de sepsis grave o shock séptico o incluso el desenlace fatal del episodio, dado que una intensificación de las medidas terapéuticas en un paciente que a priori se conoce que va a tener peor evolución clínica puede contribuir a disminuir su morbimortalidad.

Con esta intención de valorar la capacidad de predicción de los genes de virulencia de *E. coli* de eventos clínicos severos existen escasos estudios previos que merece la pena detallar a continuación, de forma cronológica.

Hekker *et al* [147] llevaron a cabo un estudio, publicado en el año 2000, en los Países Bajos para establecer el papel de varios factores de virulencia de *E. coli* en el desarrollo de sepsis, shock séptico, fracaso multiorgánico adicional o muerte. Retrospectivo en su diseño, incluyeron 30 cepas de *E. coli* aleatorias, procedentes de hemocultivos, a las que determinaron los grupos O y los tipos K, la expresión de la fimbrias P, la producción de hemolisina, la presencia del gen *cnfI* por PCR, la resistencia al suero, la quemoluminiscencia y la resistencia a los fagocitos. Tras el análisis de los datos concluyeron que, pese a que la producción de hemolisina se asociaba de forma independiente con la prevención de desarrollo de shock séptico (OR 0.1, IC 95% 0.0-0.7), fracaso multiorgánico adicional (OR 0.1, IC95% 0.0-0.7) o muerte (OR 0.0, IC95% 0.0-0.4), los factores del huésped tales como la presencia de catéteres urinarios (OR para sepsis 13, IC 95% 1.7-99 y OR para fracaso multiorgánico 10.5, IC 95% 1.1-97), la presencia de catéteres endovenosos (OR para shock séptico 36.1, IC 95% 2.9-454.7, y OR para muerte 10.6, IC 95% 1.3-84.8) o el tratamiento antibiótico apropiado (OR para fracaso multiorgánico 6.4, IC 95% 1.1-36) pesaban más que los factores de *E. coli* en la mala evolución del cuadro clínico.

Como crítica al estudio de Hekker *et al* [147] destacaría el escaso número de aislados microbiológicos incluidos, así como la recogida retrospectiva de todos los datos clínicos, incluidas las variables resultado del estudio como son el desarrollo de sepsis, shock séptico o fracaso multiorgánico. Respecto a la mortalidad, pese a ser el

50% de su población, no se evalúa su posible relación o no con el episodio bacteriémico.

Siete años más tarde, Jauréguy *et al* [145] publicaron los resultados de un estudio prospectivo de cohorte de 1 año de seguimiento llevado a cabo en dos hospitales universitarios franceses. Este grupo de investigación estudió de forma prospectiva 161 episodios consecutivos de bacteriemia por *E. coli* (14 de ellos en población pediátrica), prestando especial atención a la definición de sepsis y su gravedad inicial, las comorbilidades, incluyendo la inmunosupresión, el foco y origen de la bacteriemia y la muerte, considerando atribuible esta al episodio bacteriémico si acontecía en las primeras 48 horas. Desde el punto de vista microbiológico analizaron nueve genes de virulencia de *E. coli* (*papC*, *papGII*, *papGIII*, *sfa* / *foc*, *hlyC*, *cnfI*, *iucC*, *fyuA* and *iroN*), además de los grupos filogenéticos y la sensibilidad a antimicrobianos. Como conclusiones los autores destacan que únicamente la presencia de shock séptico y del gen *papGIII* están relacionados de forma independiente y significativa con el mal pronóstico de la bacteriemia. Ningún otro gen de virulencia fue relacionado con la severidad de la sepsis ni con la mortalidad del episodio.

Lefort *et al* [63], publican en 2011 el resultado de un estudio prospectivo, randomizado llevado a cabo en Francia y con la participación de 15 hospitales, conocido como COLIBAFI, cuyo endpoint primario era la mortalidad hospitalaria a 28 días desde el episodio de bacteriemia. En este estudio reúnen los datos de 1000 pacientes adultos consecutivos a los que además de una adecuada caracterización clínica del episodio bacteriémico (foco, origen, comorbilidades, criterios de sepsis) se determinan 18 factores de virulencia de *E. coli* (*papC*; *papG*, including *papG* alleles; *sfa/foc*; *iha*; *hra*; *ibeA*, *hlyC*, *cnfI*, *sat*, *fyuA*, *irp2*, *iroN*, *iucC*, *ireA*, *neuC*, *ompT*, *traT*, *usp*). A pesar del elevado número de pacientes y episodios fatales (12.9% de mortalidad) los autores concluyen que los factores dependientes del huésped sobrepasan a los dependientes de *E. coli* como determinantes de mala evolución, únicamente encontraron una relación inversa entre muerte y la presencia de *ireA*.

Más recientemente, en Marzo de 2012, Skjøt-Rasmussen *et al* [65], publicaron un estudio similar que recogía 196 muestras de sangre y orina de pacientes adultos con ITU bacteriémica, en su gran mayoría de origen comunitario. A todas esas muestras les llevaron a cabo un exhaustivo estudio molecular con la determinación de un total de 29 genes de virulencia de *E.coli* de 6 grupos funcionales distintos: adhesinas (*afa/draBC*,

bmaE, *fimH*, *focG*, *gafD*, *iha*, *papAH* y *sfa/focDE*), genes relacionados con el biofilm (*agn43*, *agn43aCFT073*, *agn43bCFT073* y *agn43K12*), genes relacionados con la adquisición de hierro (*chuA*, *fyuA*, *ireA*, *iroN* y *iutA*), protectinas (*iss*, *kpsM II*, *kpsM II K2*, *kpsM III* y *traT*), toxinas (*cdtB*, *cnf1*, *hlyD* y *sat*) y unos genes miscelánea (*ibeA*, *malX* y *usp*). Aunque encontraron varios de estos genes relacionados significativamente con el origen nosocomial (*KPS MII* y *hlyA*) o comunitario (*papAH*) de la bacteriemia, el sexo (*papAH* e *iss* relacionados con mujeres y *iroN* con varones), ninguno de ellos se relacionó con la mortalidad del episodio.

Como hemos podido apreciar las conclusiones de estos cuatro estudios son dispares entre sí. Con diseños clínicos y microbiológicos distintos, la única conclusión común que parecen compartir es que los factores dependientes del huésped son más importantes que aquellos dependientes de *E. coli*.

En este escenario del conocimiento nos parecía oportuno diseñar un estudio que intentara arrojar alguna luz al panorama claroscuro de la implicación de los llamados genes de virulencia de *E. coli* en el desarrollo de sepsis o mortalidad en las bacteriemias por dicho patógeno.

JUSTIFICACIÓN del ESTUDIO

2. Justificación del estudio

2.1. Hipótesis

Existen factores de patogenicidad en algunas cepas de *E. coli* que favorecen la evolución de la bacteriemia hacia sepsis. Aunque existen factores independientes del microorganismo y dependientes únicamente del paciente, en algunos grupos de riesgo, en los que los pacientes son comparables entre si, el factor microbiológico adquiere preponderancia y puede detectarse una asociación entre ciertos rasgos genéticos del microorganismo (factores de virulencia ó genes de virulencia) y el curso de la infección. En estas situaciones la detección de un marcador o un conjunto de marcadores podría tener valor predictivo.

2.2. Objetivos

1. Estudiar prospectivamente la asociación entre diversos rasgos de virulencia de *E. coli* y el desarrollo de sepsis y su evolución en pacientes con bacteriemia por *E. coli*.
2. Comparar las relaciones filogenéticas, y otros marcadores de virulencia entre dos grupos de aislados clínicos de *E. coli*, aquellos procedentes de bacteriemia sin sepsis y aquellos otros procedentes de bacteriemia con sepsis.
3. Comparar las relaciones filogenéticas, y otros marcadores de virulencia entre dos grupos de aislados clínicos de *E. coli*, aquellos procedentes de bacteriemia con resultado fatal y aquellos con evolución no fatal.

PACIENTES, MATERIAL y MÉTODOS

3. Pacientes, Material y Métodos

3.1. Diseño y desarrollo del estudio

Se trata de un estudio observacional, prospectivo, en el que se evalúan de forma consecutiva todas las bacteriemias por *E. coli* en adultos mayores de 18 años de edad ingresados en el Hospital Universitario La Paz que aceptaron participar.

El presente estudio consta de dos partes: epidemiológica y experimental.

Estudio Epidemiológico

Partiendo de una alerta del Servicio de Microbiología Clínica cuando se producía un aislamiento de *E. coli* en muestras de hemocultivos de pacientes ingresados en el HULP el equipo investigador acudía a evaluar al paciente para, tras obtención del consentimiento informado, recoger los datos relativos a variables demográficas, antecedentes médicos, exploración física, momento de la bacteriemia, origen de la misma y tratamiento instaurado como se especifican más adelante (Epígrafe 2.5. Variables del estudio y Anexo 1).

En este momento se recogieron las variables que luego servirían para determinar a qué grupo pertenecían los pacientes evaluados en relación a la respuesta inflamatoria a la infección: Sepsis, Sepsis Grave y Shock Séptico

Posteriormente se recogieron los datos necesarios para conocer la evolución a corto, medio y largo plazo del episodio bacteriémico analizado, para establecer reingresos o fallecimiento del paciente así como sus causas..

En ningún momento el equipo investigador intervino en la decisión tomada por el clínico responsable del paciente respecto a la pauta antimicrobiana ni ninguna otra intervención diagnóstica ni terapéutica.

Estudio Experimental

De forma rutinaria el laboratorio de Microbiología Clínica realiza el antibiograma a todos los aislados clínicos, entre ellos los hemocultivos objeto de este estudio. El procesado de las muestras consiste en la extracción de muestras de hemocultivo en condiciones de asepsia, al menos dos muestras pareadas simultáneas o separadas 15-20 minutos, extraídas de dos punciones venosas distintas, que pasan a la incubadora con lectura automatizada Bactec (BACTEC™, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) or BacT/ALERT® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) hasta la

detección de crecimiento bacteriano. El caldo de cultivo crecido se siembra en placas cultivo y con el aislamiento de la colonia se pasa a los métodos automatizados de identificación y antibiograma Wider® (Fco. Soria Melguizo, Madrid, España) o Vitek2® (bioMérieux Marcy l'Etoile, Francia).

Se utilizó este análisis para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los distintos antibióticos de uso clínico según puntos de corte de la CLSI [148], dato con el que determinar si el tratamiento empírico antibiótico instaurado era adecuado o no, en función de si la CMI del antibiótico utilizado en cada paciente se encontraba por debajo del rango que determina que la cepa bacteriana en cuestión es sensible.

Además del procesado rutinario de la muestra, una vez identificada la colonia como *E. coli* esta era congelada con glicerol al 20% a -70°C hasta el posterior análisis molecular de la misma de forma conjunta con todas las muestras del estudio. Para ello se contó con el apoyo del equipo humano y técnico de Biología Molecular del IdiPAZ. La metodología usada en el laboratorio de Biología Molecular se especifica mas adelante, en el apartado 2.5.11.

3.2. Población, criterios de inclusión y exclusión y ámbito del estudio

Se incluyeron todos los pacientes de 18 años o más ingresados en cualquier servicio médico o quirúrgico del HULP con bacteriemia documentada por *E. coli* que accedieran a participar. No existía criterio de exclusión distinto de la falta de consentimiento para la participación en el mismo por parte del paciente.

Este estudio se ha llevado a cabo en el Hospital Universitario La Paz, situado en la zona norte de Madrid, área 5, que atiende una población aproximada rural y urbana de 600.000 habitantes. Es un Hospital de tercer nivel asistencial, con todos los servicios médicos y quirúrgicos disponibles, y un total de 1328 camas de hospitalización. La actividad asistencial llevada a cabo en un año en el centro es: 58.567 ingresos, 1.241.634 consultas externas, 285.108 urgencias, 45.539 intervenciones quirúrgicas, 10.364 partos, 151 trasplantes de órgano sólido.

La fase de recogida de datos se llevó a cabo entre Mayo de 2010 y Mayo de 2011.

3.3. Ética y legislación

En España, el derecho de privacidad de los pacientes está protegido por el consentimiento informado, regulado por la “Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica” Asimismo la datos recogidos para el estudio están identificados mediante un código cumpliendo todos los requisitos de la ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal (BOE nº 298 de 14-12-1999). Consentimiento informado disponible en anexo 2.

Los procedimientos llevados a cabo están de acuerdo con las normas éticas establecidas por la Declaración de Helsinki. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del HULP.

3.4. Muestra y cálculo del tamaño muestral

En un estudio preliminar previo realizado en HULP-IdiPAZ, con financiación del Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI060206) dirigido por el Dr J Mingorance (comunicación personal, datos no publicados) se estudió la presencia del gen de patogenicidad PAI_{usp} de *E. coli* en aislamientos clínicos procedentes de pacientes de distintas unidades del HULP. Contando con el apoyo del Servicio de Nefrología se separaron de esa colección aquellos aislados procedentes de pacientes sometidos a trasplante renal (n=25), y se clasificaron en dos grupos, aquellos que correspondían a episodios de bacteriemia sin sepsis, y los que correspondían a episodios de bacteriemia con sepsis (definida retrospectivamente como ingreso en Unidad de Cuidados Intensivos o tratamiento con fármacos vasoactivos). Pese a que el tamaño de la muestra era pequeño, el análisis mostró que entre los aislados de episodios de bacteriemia con sepsis en torno al 70% eran portadores de la PAI_{usp}, mientras que en el grupo de bacteriemia sin sepsis la frecuencia de cepas portadoras de la PAI_{usp} es del 20%.

Con los datos de este estudio piloto que sirvió para generar la hipótesis del presente trabajo y tras la realización de una búsqueda bibliográfica exhaustiva, no se encontraron datos suficientes de asociación de factores genéticos de patogenicidad de *E. coli* a sepsis, sepsis grave o shock séptico que permitieran estimar de forma apropiada el tamaño muestral requerido para corroborar o descartar la hipótesis de trabajo. Por lo tanto se eligió una muestra de al menos 100 pacientes. El estudio debe ser considerado exploratorio

3.5. Variables del estudio y definición de las mismas

3.5.1. Datos demográficos del paciente

Se recogieron la edad del paciente en el momento del ingreso, en años, el sexo, la fecha de ingreso en el HULP y el servicio hospitalario del mismo. En los casos en que el paciente, atendido en el servicio de Urgencias, permanecía en dicho servicio más de 48h se consideró este como el servicio de ingreso, cuando el paciente era dado de alta antes de ese tiempo no se incluyó en el estudio por considerarse paciente sin ingreso.

3.5.2. Enfermedades subyacentes, comorbilidad e inmunosupresión

Se recogieron las siguientes enfermedades subyacentes, con objeto de poder calcular el índice de comorbilidad de Charlson [149] con que comparar la comorbilidad de todos los sujetos del estudio:

- Infarto de miocardio. Antecedentes de hospitalización por IAM con alteraciones electrocardiográficas y/o enzimáticas.
- Insuficiencia cardiaca congestiva. Antecedentes de disnea de esfuerzo o disnea paroxística nocturna con respuesta favorable al tratamiento farmacológico.
- Enfermedad vascular periférica. Incluye claudicación intermitente o by-pass periférico, isquemia arterial aguda y aneurisma de aorta (torácica o abdominal) ≥ 6 cm de diámetro.
- Enfermedad cerebrovascular. Historia de accidente cerebrovascular con secuelas mínimas o accidente isquémico transitorio.
- Hemiplejia. Hemiplejia o paraplejia de cualquier causa.
- Demencia. Evidencia de deterioro cognitivo crónico de cualquier causa.
- Enfermedad pulmonar. Evidencia en la historia clínica, exploración física o en exploraciones complementarias de cualquier enfermedad respiratoria crónica.
- Enfermedad del tejido conectivo. Evidencia en la historia clínica del paciente de cualquier enfermedad autoinmune o del tejido conectivo.
- Úlcera gastroduodenal. Pacientes con diagnóstico y tratamiento por ulcus (incluye hemorragia digestiva alta).

- Diabetes Mellitus. Pacientes con antecedente en historia clínica de diabetes o tratamiento con insulina o antidiabéticos orales, sin presencia de complicaciones tardías (no incluye los pacientes tratados solo con dieta).
- Diabetes Mellitus con afectación de órganos diana. Pacientes con retinopatía, neuropatía o nefropatía de origen diabético. Incluye antecedentes de cetoacidosis o descompensación hiperosmolar.
- Insuficiencia renal crónica. Incluye pacientes sometidos a técnicas de depuración renal (hemofiltración o diálisis peritoneal) o con niveles de creatinina sérica de superiores a 2 mg/dL.
- Hepatopatía crónica Leve: sin evidencia de hipertensión portal ni episodios de descompensación.
- Hepatopatía crónica Moderada-grave: con evidencia de hipertensión portal o episodios previos de ascitis, presencia de varices esofágicas, hemorragia digestiva alta por varices esofágicas o episodios de encefalopatía hepática.
- Neoplasia sólida. Pacientes con neoplasia pero sin metástasis documentada tratados en los últimos cinco años.
- Neoplasia sólida metastásica. Tumor o neoplasia sólida con metástasis.
- Linfoma. Incluye linfomas, macroglobulinemia de Waldenstrom y mieloma.
- Leucemia. Incluye leucemia mieloide crónica, leucemia linfática crónica, otras leucemias crónicas y todas las leucemias agudas.
- SIDA. Se incluyen pacientes con infección crónica por el Virus de la Inmunodeficiencia humana con categoría C3 de los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (recuento de linfocitos CD4 <200/ μ L o enfermedad definitoria de Síndrome de inmunodeficiencia adquirida) [150].

El índice de comorbilidad de Charlson es un sistema de evaluación de la patología crónica asociada que asigna una puntuación a aquella que ha demostrado ser predictiva de la mortalidad a medio plazo. Cada una de las enfermedades reseñadas previamente, puntúa en la escala como sigue:

- 1 punto por cada una de las siguientes entidades: Infarto agudo de miocardio, Insuficiencia cardíaca, Enfermedad vascular periférica, Demencia, Enfermedad cerebrovascular, enfermedad pulmonar crónica, enfermedad del tejido conectivo, enfermedad ulcerosa, enfermedad hepática leve, diabetes mellitus no complicada.

- 2 puntos por cada una de las siguientes entidades: hemiplejia, enfermedad renal moderada o grave, diabetes mellitus con afectación de órgano diana, cualquier tumor maligno, leucemia, linfoma.
- 3 puntos por cada una de las siguientes entidades: enfermedad hepática grave
- 6 puntos por cada una de las siguientes entidades: Tumor solido metastásico, SIDA.

Asimismo se recogió el índice McCabe-Jackson [151]. Se trata de un índice del pronóstico vital del paciente en función de las enfermedades previas del mismo. Se clasifica en:

- No fatal: no enfermedad de base, o de la que no se espera la muerte antes de 5 años.
- Últimamente fatal: es esperable la muerte por la enfermedad de base en menos de 5 años.
- Rápidamente fatal: es esperable la muerte como consecuencia de la enfermedad de base en los próximos 3 meses.

También se recogió el antecedente de trasplante renal, con el objetivo inicial de evaluar si en estos pacientes, comparados con los no trasplantados, había diferencias en la expresión genética de *E. coli* o de respuesta inflamatoria sistémica. Debido al número no significativo (n=5) de episodios en pacientes trasplantados recogidos en este año, y a la continuación del proyecto FIS (PI10/00795), el equipo investigador hemos decidido no incorporar estos datos en esta fase de análisis del mismo.

Además se recogió el uso de tratamientos inmunosupresores:

- Corticoides a dosis superiores a 1mg/kg de peso durante más de un mes
- Tratamientos biológicos de uso médico: inhibidores de TNF alfa (Etanercept, Infliximab, Adalimumab), inhibidores de IL1r (Anakinra), depletores de linfocitos (Rituximab) y antagonistas de IL6r (Tolicizumab)
- Otros inmunosupresores: Ciclofosfamida, metotrexate, micofenolato mofetilo, Azatioprina, Tacrolimus, Sirolimus, Everolimus.

3.5.3. Variables relacionadas con el origen de la bacteriemia

Además de los datos relacionados con el paciente (demografía y comorbilidades) se recogieron las variables relacionadas con el origen de la bacteriemia, considerando:

- Origen urinario: cuando existían datos clínicos, analíticos y/o microbiológicos de dicho origen. Se recogió asimismo si el paciente presentaba algún factor de riesgo para este origen urológico como alteraciones de la vía urinaria (primarias o secundarias) o si era portador de catéteres urinarios (Sonda vesical, pig tail u otros)
- Origen abdominal: cuando existían datos clínicos, analíticos, radiológicos y/o microbiológicos de dicho origen.
- Otros orígenes: cuando existían datos clínicos o microbiológicos para considerar otros focos como por ejemplo bacteriemias asociadas a catéter venoso central.
- Origen desconocido, o bacteriemia primaria, cuando ninguno de los anteriores estaba presente.

3.5.4. Variables relacionadas con lugar de adquisición de la bacteriemia

El lugar de adquisición de la bacteriemia es determinante en los patógenos esperables como causantes del cuadro infeccioso, así como de su perfil de sensibilidad a antimicrobianos, consideraciones que influyen en gran medida en la elección del tratamiento antimicrobiano empírico. Según los Centers for Disease Control [27] y modificaciones posteriores [28], hemos considerado las siguientes definiciones:

- Origen nosocomial: bacteriemia que ocurrió tras las 48 horas del ingreso hospitalario, y cuyos síntomas no estaban presentes al ingreso o durante las primeras 48 horas; asimismo se incluyen las acontecidas durante los primeros 7 días tras el alta hospitalaria.
- Relacionado con la asistencia sanitaria: si en los 3 meses previos al ingreso se daba alguna de las siguientes circunstancias: ingreso durante más de 48 horas en hospital de agudos o crónicos, residencia en centro socio sanitario, hemodiálisis u otro tipo de diálisis periódica, atención periódica en hospital de día u hospitalización domiciliaria.

- Origen comunitario: todos los que no cumplían ninguna de las condiciones previas.

3.5.5. Variables relacionadas con la afectación sistémica de la bacteriemia

Para evaluar la gravedad del episodio bacteriémico y poder comparar entre grupos utilizamos el score de Pitt [152] [153].

El score de gravedad de Pitt considera variables de exploración física tomadas en el momento de la bacteriemia para graduar la gravedad, puntuando entre 0 y cuatro las variables según se expresan a continuación:

- Temperatura: $\leq 35^{\circ}\text{C}$ 2 puntos, 36°C 1 punto, $36.1\text{--}38.9^{\circ}\text{C}$ 0 puntos, 39°C 1 punto, $\geq 40^{\circ}\text{C}$ 2 puntos.
- Hipotensión: 2 puntos si se cumple alguna de las siguientes situaciones: caída aguda de tensión arterial sistólica en al menos 30mmHg, o en la tensión arterial diastólica de 20mmHg; necesidad de agentes vasoactivos o tensión arterial sistólica inferior a 90mmHg.
- Parada cardíaca: 4 puntos
- Ventilación mecánica: 2 puntos
- Estado mental: alerta 0 puntos, desorientado 1 punto, estuporoso 2 puntos, comatoso 4 puntos

3.5.6. Variables relacionadas con el tratamiento

Se recopilaron los datos del momento del inicio del tratamiento antimicrobiano empírico, el principio activo y la vía de administración del mismo.

Además se evaluó si el tratamiento era adecuado o no en función de los datos microbiológicos disponibles (Ver apartado 3.5.10: Determinaciones del laboratorio de microbiología).

Se consideró tratamiento antibiótico adecuado a aquel que se administraba por la vía apropiada, con fármaco activo frente al aislado microbiológico en función de la CMI del mismo, con dosis ajustada a características del paciente (peso, función renal, función hepática) y adecuada penetración en el foco origen de la bacteriemia.

3.5.7. Definición de sepsis, sepsis grave, shock séptico

Con las variables recogidas se definieron de forma operativa Sepsis, Sepsis grave y Shock séptico, según definiciones de Bone *et al* [10].

Sepsis: Se consideró que existía Sepsis o Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS) secundaria a infección si existían al menos dos de las siguientes condiciones:

- Temperatura corporal mayor de 38°C ó menor de 36°C.
- Frecuencia cardíaca mayor de 90 latidos por minuto.
- Frecuencia respiratoria superior a 20 por minuto.
- Recuento de leucocitos mayor de 12.000 por mm³ ó menor a 4.000 por mm³

Sepsis grave: Se consideró que existía Sepsis Grave, si se cumplían criterios de Sepsis y además algún dato de fallo de órgano, como:

- Hipotensión arterial: TA sistólica inferior a 90mmHg, TA diastólica inferior a 40 mmHg o evento hipotensivo
- Necesidad de ventilación mecánica
- Alteración neurológica: Status mental distinto de alerta o escala de coma de Glasgow inferior a 15puntos
- Necesidad de técnicas de depuración extrarrenal

Shock séptico: Se consideró que existía Shock séptico, si se cumplían criterios de Sepsis y además uso de aminas vasoactivas para el mantenimiento de la tensión arterial.

3.5.8. Variables relativas a la evolución clínica

Se consideraron como fechas claves la de ingreso hospitalario, la de bacteriemia, la de alta hospitalaria, y las de reingreso y exitus si estos hechos sucedían.

Se recogió la mortalidad a corto y medio plazo: intraingreso, y dentro de los primeros 30 días tras el alta. Asimismo se recogió si el fallecimiento se consideraba relacionado o no con el episodio de bacteriemia por *E. coli*.

Con las referidas fechas también se calculó la estancia hospitalaria de los pacientes y el tiempo entre el ingreso y la bacteriemia en los casos de infección de origen nosocomial.

Respecto al reingreso se consideraron aquellos ocurridos en los primeros 3 meses del alta. Asimismo se recogió si se consideraba relacionado o no con el episodio bacteriémico.

3.5.9.Determinaciones del laboratorio

Se recogieron las siguientes variables analíticas de los laboratorios de Hematología y Bioquímica:

- Proteína C Reactiva, en mg/dL
- Leucocitos, en células/mm³
- Neutrófilos, en porcentaje de la cifra de leucócitos totales
- Hematocrito, en porcentaje
- Bicarbonato venoso, en mEq/L
- Creatinina, en mg/dL.
- Sodio, en mEq/L
- Potasio, en mEq/L.

Estas determinaciones se realizaron según estándares de calidad del laboratorio, acreditado por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC, acreditación N° 491/LE1130).

3.5.10.Determinaciones del laboratorio de microbiología

En el laboratorio de Microbiología y Parasitología clínicas se procesaron las muestras de hemocultivos obtenidos, ofreciendo a los clínicos, y como variables al estudio:

- Fecha de recogida del hemocultivo
- Fecha de positividad del hemocultivo
- Antibiograma, en que se hacen constar las Concentraciones mínimas inhibitorias para cada antibiótico, según los puntos de corte del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [148].

El laboratorio de Microbiología y Parasitología Clínicas, trabaja bajo estándares de calidad acreditados por SGS según norma ISO 9001:2008.

En base a estos datos microbiológicos y en vista del antimicrobiano empleado en el tratamiento de cada paciente se pudo establecer si el tratamiento se consideraba adecuado o no, teniendo en cuenta tanto principio activo como vía de administración, dosis y foco de infección.

3.5.11. Determinaciones del laboratorio de biología molecular

En el laboratorio de Biología Molecular se determinaron los siguientes genes de *E. coli*: *mal X*, *svg*, *fim H*, *sfa D/E*, *afa B/C*, *hly A*, *usp*, *iuc D*, *kps*, *pap C*, *pap G alelo I*, *pap G alelo II*, *pap G alelo III*, *iroN*, *iha*, *sat*, *ibe A*, *trat T*, *cva C*, *iut A*, *fyu A*, *cnf*, *cdtB*, *ireA*, *ompT* y las familias de betalactamasas TEM, CTX-M y VIM.

La presencia o ausencia de dichos genes fue establecida por técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, de sus siglas en inglés), usando los oligonucleótidos mencionados en la Tabla 5.

El ADN genómico de cada aislado se purificó utilizando el *kit* comercial UltraClean Microbial DNA purification kit (MO BIO Laboratories Inc., Carlsbad, CA). Los ADNs fueron distribuidos en placas maestras de 96 pocillos. Las PCRs para cada gen de virulencia (GV) se realizaron en placas de 96 pocillos donde la mezcla de reacción se preparó con tampón de reacción 1X con MgCl₂ (Biotools), 0,2μM concentración final de cada uno de los oligonucleótidos, 0,2 μM concentración final de mezcla de dNTPs, 1 U de ADN polimerasa (*Biotools*) y 5 μl (20 ng) de ADN en un volumen final de 50 μl. La reacción de PCR consta de un paso inicial de desnaturalización de 5 min a 95°C, 30 ciclos de 30s a 95°C, 30s a la temperatura de anillamiento de cada par de oligonucleótidos y 1min a 72°C, con paso final de extensión de 5 min a 72°C. Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis en gel de agarosa de 96 pocillos (VG-FAST, Fisher Bioblock Scientific) con GelRed™ (Biotium Inc.). Se calculó el número de GVs (*score*) para cada aislado.

Asimismo se determinó el grupo filogenético, A, B1, B2 y D, según metodología descrita por Clermont *et al* [154], de todos los aislados microbiológicos.

Además de las técnicas de PCR descritas para la determinación de genes de virulencia y grupos filogenéticos de *E. coli*, se realizaron técnicas de basadas en multilocus sequence typing (MLST) para el estudio de la diversidad genética de las cepas estudiadas. Se realizó para la tipificación la pirosecuenciación de posiciones de nucleótido único (SNP de sus siglas en inglés, single nucleotide polymorphic positions), según metodología descrita y validada [117], en adelante referida como pirosecuenciación basada en MLST.

Tabla 5. Primers de secuenciación de genes de *E. coli*

Gen	Secuencia del Primer	T(°C)	Amplicon (pb)	Referencia
Adhesinas				
<i>pap C</i>	F: GACGGCTGACTGCAGGGTGTGGCG R: ATATCCTTCTGCAGGGATGCAATA	58	328	[155]
<i>pap G allele I</i>	F: CAACCTGCTCTCAATCTTACTG R: CATGGCTGGTTGTTCTAAACAT	50	692	[156]
<i>pap G allele II</i>	F: GGAATGTGGTGATTACTCAAAGG R: TCCAGAGACTGTTCAAGAAGGAC	58	562	[156]
<i>pap G allele III</i>	F: CATGGCTGGTTGTTCTAAACAT R: TCCAGAGACTGTGAGAAGGAC	58	421	[156]
<i>afaB/C</i>	F: GCTGGGCAGCAAAGTATAACTCTC R: CATCAAGCTGTTTGTTCGTCGCCG	58	750	[155]
<i>fimH</i>	F: TGCAGAACGGATAAGCCGTGG R: GCAGTACCTGCCCTCCGGTA	58	508	[111]
<i>lha</i>	F: CTGGCGGAGGCTCTGAGATCA R: TCCTAAGCTCCCAGCGCTGA	58	827	[111]
<i>sfa/foc DE</i>	F: CGGAGAGTAATTACAAACCTGGCA R: CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC	58	410	[155]
Toxinas				
<i>cdtB</i>	F1: GAAAGTAAATGGAATATAAATGTCCG R1: AAATCACCAAGAATCATCCAGTTA F2: GAAAGTAAATGGAACACACATGTCCG R2: AAATCTCCTGCAATCATCCAGTTA	50	430	[111]
<i>cnf</i>	F: GAACTTATTAAGGATAGT R: CATTATTATAACGCTG	45	543	[157]
<i>hlyA</i>	F: ACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT R: ACCATATAAGCGGTCATTCCTGCA	58	1177	[158]
<i>Sat</i>	F: GTTGTCTCTGGCTGTTGC R: AATGATGTTCTCCAGAGC	54	501	[159]
<i>Usp</i>	F: ATGCTACTGTTTCCGGGTAGTGTGT R: ACCTCCAGCCACAGCGCCTC	58	805	[160] Este trabajo
Protectinas				
<i>kps MTII</i>	F: GCGCATTGCTGATACTGTTG R: CATCAGACGATAAGCATGAGCA	58	272	[111]
<i>ompT</i>	F: ATCTAGCCGAAGAAGGAGGC R: CCCGGTTCATAGTGTTCATC	58	559	[111]
Relacionados con adquisición del hierro				
<i>iroN</i>	F: AAGTCAAAGCAAGGGTTCGCCG R: GACGCCGACATTAAGACGCAG	58	667	[111]
<i>ireA</i>	F: TCTGATAAAAAAGAAGATACG R: GAAGGATACTTTACATT	45	1971	[161]
<i>fyuA</i>	F: TGATTAACCCCGCAGCGGAA R: CGCAGTAGGCACGATGTTGTA	58	880	[111]
<i>iutA</i>	F: GGCTGGACATCATGGAACTGG R: CGTCGGGAACGGGTAGAATCG	58	302	[111]
<i>iucD</i>	F: TACCGGATTGTCATATGCAGACCGT R: AATATCTTCTCCAGTCCGGAGAAG	58	602	[158]
Miscelanea				
<i>ibeA</i>	F: AGGCAGGTGTGCGCCGCTAC R: TGGTGCTCCGGCAAACCATGC	58	170	[111]
<i>tratT</i>	F: GGTGTGGTGCATGAGCACAG R: CACGGTTCAGCCATCCTGAG	58	290	[111]
<i>malX</i>	F: GCGATCGGCCAACCTGTTCT R: CGGTTCCGGCTGTGATTGGTG	54	429	[162]
<i>cvaC</i>	F: CACACACAAACGGGAGCTGTT R: CTCCCGCAGCATAGTTCCAT	58	680	[111]
<i>Svg</i>	F: TCCGGCTGATTACAAACCAAC R: CTGCACGAGGTTGTAGTCTG	54	434	[163]

3.6. Metodología estadística y análisis estadístico de los datos

Las variables cualitativas se expresan mediante número absoluto y porcentaje, las variables continuas mediante la media y desviación estándar o mediana y rango. Se usó la χ^2 para la comparación de proporciones con un nivel de significación de $p < 0.05$.

A medida que se desarrollaba el proyecto y dado que se trataba de un estudio exploratorio realizamos las siguientes modificaciones sobre el plan de análisis original

Debido al escaso número de pacientes con shock séptico y para poder evaluar algún tipo de asociación entre los factores microbiológicos estudiados y la respuesta a la sepsis del huésped, decidimos dicotomizar la respuesta a la sepsis en leve -categoría que incluyó pacientes sin datos de sepsis o con sepsis leve-, y grave -categoría que incluyó pacientes con datos de sepsis grave y shock séptico, según las definiciones previas. Antes de la recategorización de la variable respuesta a la sepsis se compararon los grupos entre sí para ver sus similitudes.

Otra modificación respecto a las variables originales está en relación con los genes implicados en la síntesis de proteínas que conforman las fimbrias P, esto es *papC*, *papG alelo I*, *papG alelo II* y *papG alelo III*. Como el análisis univariante determinó su relación estadísticamente no significativa con la evolución favorable del episodio bacteriémico se creó una nueva variable que fue introducida en el modelo multivariante. La nueva variable, denominada Fimbria P, se consideró presente si estaba al menos uno de los genes relacionados con dicha estructura bacteriana.

Se llevaron a cabo dos análisis multivariantes, uno cuya variable dependiente fue la sepsis grave y el otro cuya variable dependiente fue la muerte. En el modelo se incluyeron las variables clínicas con significación estadística de $p < 0.05$ en el modelo univariante, así como todos los factores de virulencia de *E. coli* analizados, pese a no existir diferencias estadísticamente significativas en el análisis univariante entre los grupos, por considerar este un análisis exploratorio. Los análisis multivariantes se realizaron mediante regresión logística por pasos.

Además se analizó la distribución de los factores de virulencia estudiados según el grupo filogenético de *E. coli*.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa informático estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Chicago, IL, USA) versión 10 para Windows.

RESULTADOS

4. Resultados

Durante el periodo de estudio, entre Mayo 2010 y Mayo 2011 se recogieron de forma consecutiva 120 episodios de bacteriemia por *E. coli* correspondientes a 120 pacientes. Los datos relativos a la respuesta inflamatoria solo estaban disponibles de 119 pacientes.

Expondré a continuación las características de dicha población de forma global y en función de su respuesta inflamatoria a la infección. Así como las características microbiológicas y moleculares de los aislados de *E. coli* y la asociación de los patrones genéticos con los cuadros de sepsis.

4.1. Características globales de los pacientes ingresados en un hospital terciario con bacteriemia por *E. coli*

4.1.1. Demografía

De los 120 pacientes incluidos en el estudio, el 49,6% (IC 95% 67,7-73,7) eran varones. La edad media de la población era de 70,7 años, con una desviación estándar de 16,5 años. El 68.9% de la población tenía una edad superior a 65 años de edad.

La distribución etaria entre los sexos era la siguiente: los hombres tenían una edad media de 69,3 años, con unos rangos entre 33 y 96 años de edad. Entre las mujeres estos parámetros eran: media 72, rangos 20 y 98 años de edad. La distribución por edad y sexo se refleja en las siguientes graficas (Figura 16).

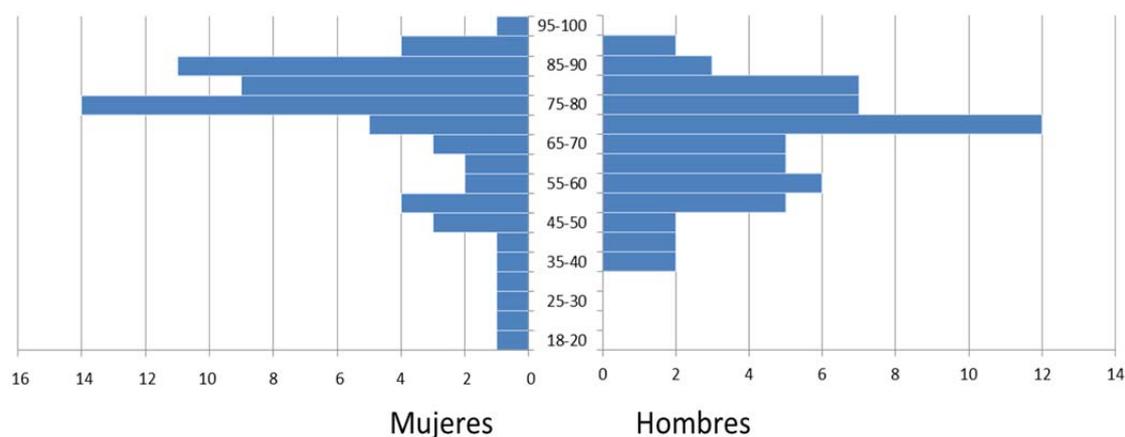


Figura 16. Distribución por edad y género de la población

El 65,8% de los pacientes estaba ingresado en un servicio médico, el 22,2% en un servicio quirúrgico y el 12% en una unidad de críticos en el momento de la evaluación de la bacteriemia. En las siguientes graficas se indican los servicios concretos donde ingresaron.

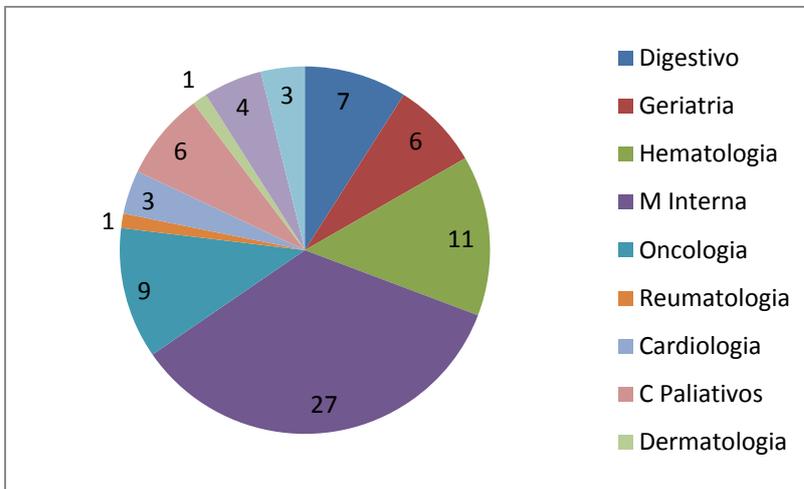


Figura 17. Distribución por Servicios en Área Médica

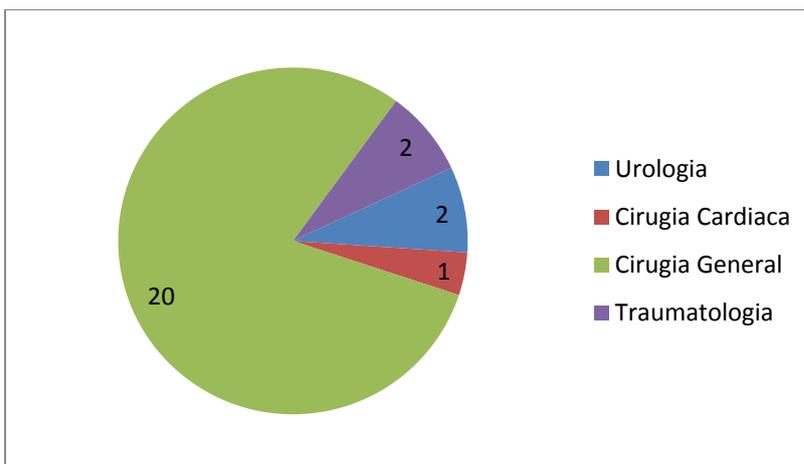


Figura 18. Distribución por Servicios en Área Quirúrgica

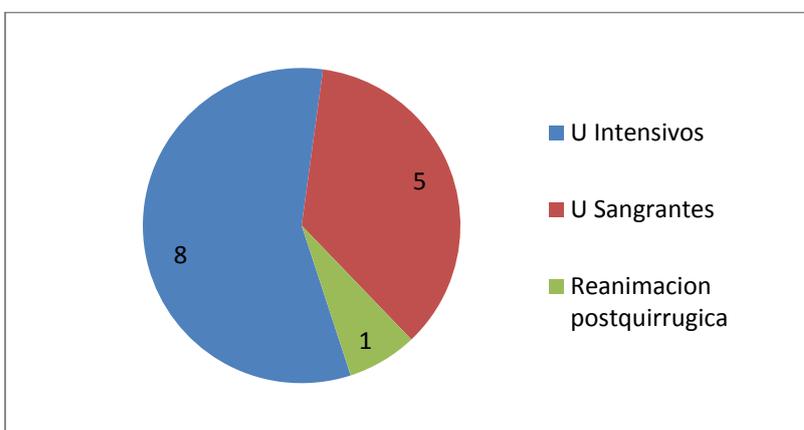


Figura 19. Distribución por Servicios en Áreas de Críticos

4.1.2. Comorbilidades

La comorbilidad de la población incluida en el estudio fué considerable, asociada probablemente a esa edad media elevada.

La población incluida en el estudio tenía un índice de Charlson medio de 3 con una desviación estándar de 2,2. El 54,2% de la población tenía más de 2 puntos en dicha escala.

Podemos ver los distintos antecedentes de los pacientes en la siguiente grafica:

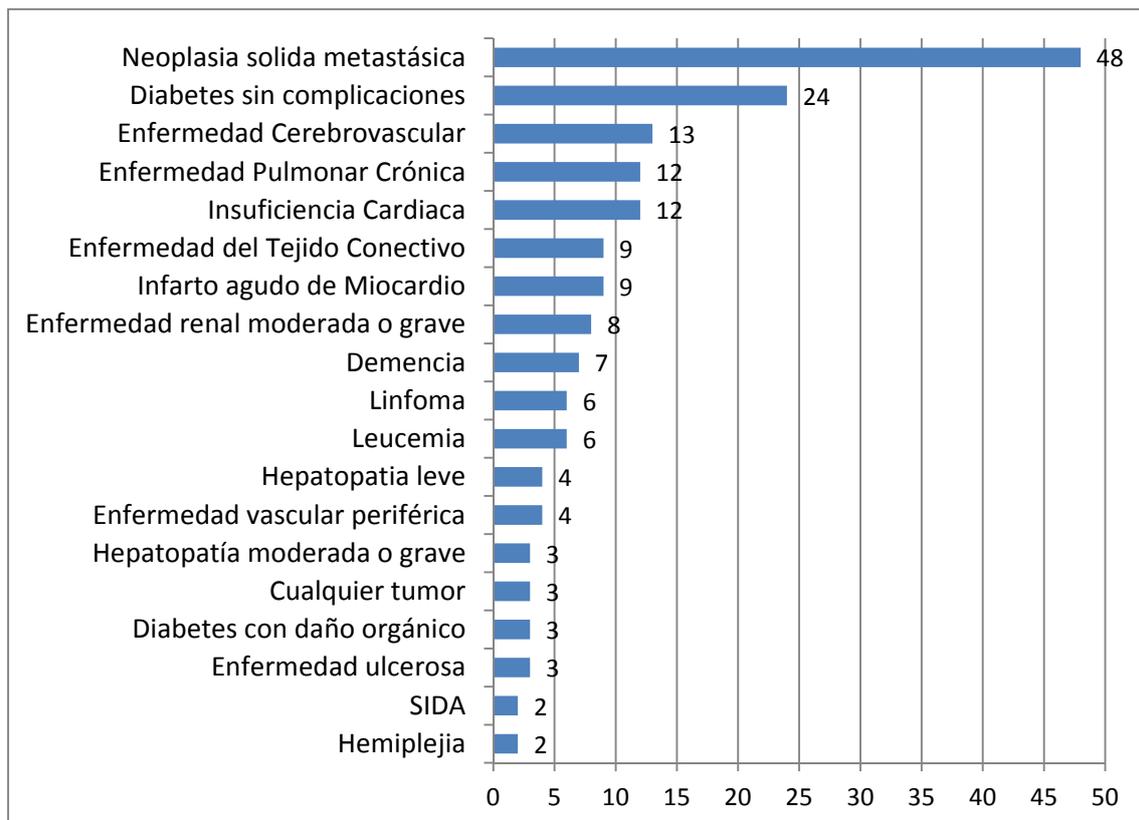


Figura 20. Comorbilidad de la población

El 28,3 % de los pacientes tenía algún tipo de condición inmunosupresora, ya fuera primaria, secundaria o farmacológica. Se incluyeron 2 (1,7%) pacientes con infección crónica por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Siete (5,8%) pacientes recibían tratamiento quimioterápico por enfermedad neoplásica sólida o hematológica. Además hubo 11 pacientes en tratamiento corticoideo, 1 (0,8%) en tratamiento con fármacos biológicos y 7 (5,8%) con otros fármacos inmunosupresores

4.1.3. Origen y foco de la bacteriemia

Se evaluó si el origen de la bacteriemia era nosocomial, comunitario o relacionado con los cuidados sanitarios, así observamos que en el caso de 53 pacientes el origen de la infección era comunitario, en otros 53 era adquirido en el hospital y en los 14 casos restantes provenía de otros cuidados sanitarios no hospitalarios (Figura 21).

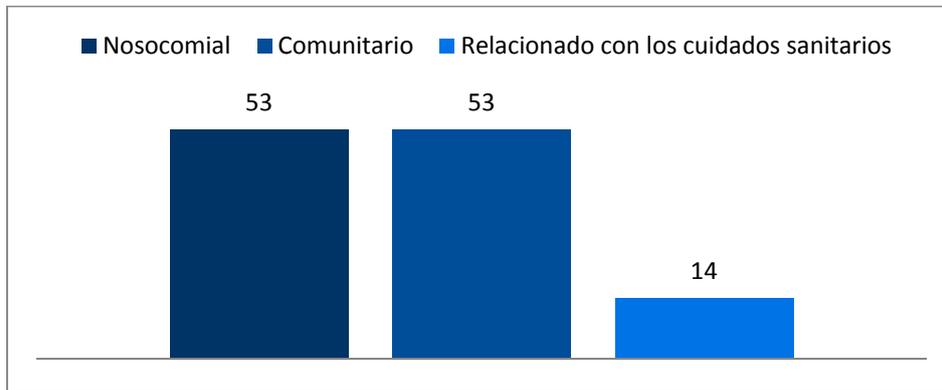


Figura 21. Origen de la bacteriemia en la población de estudio

El tiempo medio entre el ingreso hospitalario y la bacteriemia fue de 9,2 días, con una desviación estándar de 15,1 días. Hay que diferenciar entre los pacientes cuyo motivo de ingreso fue este evento, con lo que el tiempo desde ingreso a bacteriemia es cero, frente a aquellos casos nosocomiales, en los que el ingreso se debió a otro motivo distinto de la bacteriemia estudiada. Así el tiempo medio entre el ingreso y la bacteriemia en los casos nosocomiales fue de 20 días (rango 0-74 días).

Respecto a la fuente de la bacteriemia 40 (33,3%) casos eran de origen urinario, 57 (47,5%) de origen abdominal, 4 (3,3%) asociados a catéter y los 17 (14,2%) restantes de otros orígenes o desconocido (Figura 22)

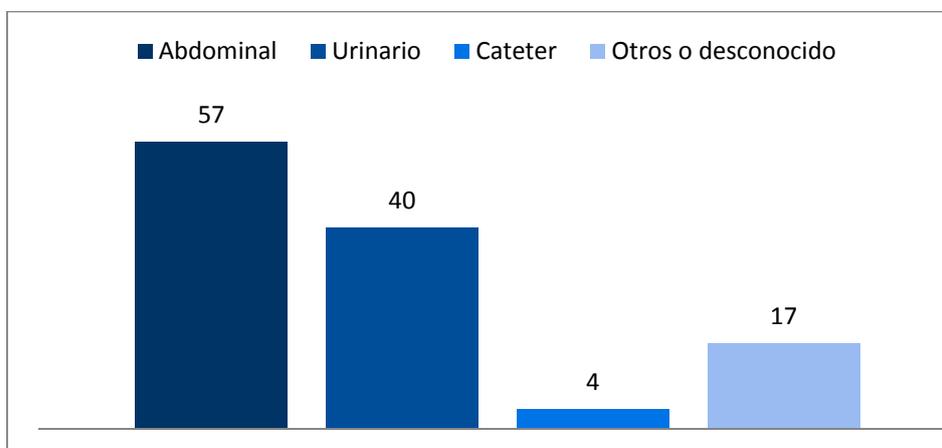


Figura 22. Fuente de la Bacteriemia en la población estudiada

4.1.4.Repercusión del episodio de bacteriemia

Se evaluaron los datos correspondientes a tensión arterial, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, estatus mental, temperatura, necesidad de drogas vasoactivas, para poder clasificar el episodio de bacteriemia como causante de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) leve, grave o shock séptico, o no causante del mismo. Así encontramos que el 42% de los pacientes no tenían criterios de SRIS, el 20,16% tenían criterios de sepsis leve, el 28,57% tenían criterios de sepsis grave, y el 9,24% de shock séptico (Figura 23).

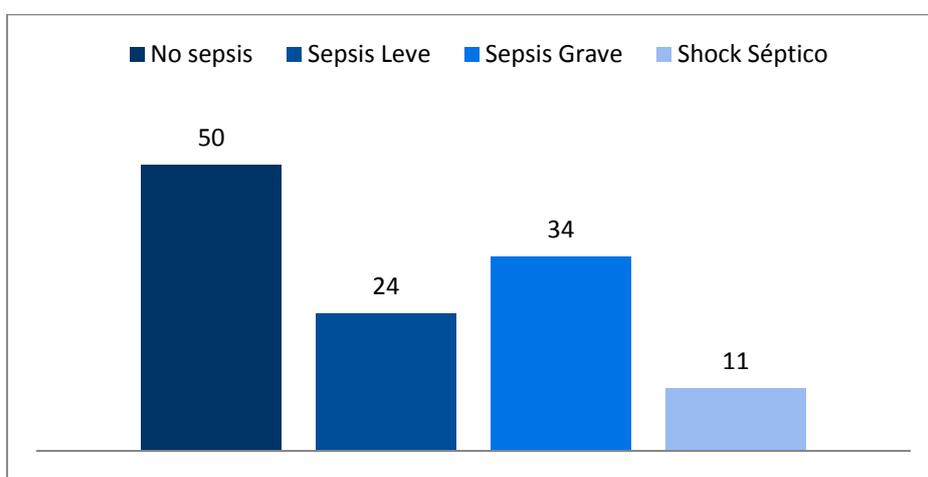


Figura 23. Evolución del episodio de bacteriemia en toda la población: grados de SRIS

El análisis del índice de Pitt como marcador de gravedad y pronóstico en bacteriemias, mostró los siguientes datos: la media global fue de 1,11 (SD 1,6). Si consideramos los distintos grupos de respuesta inflamatoria ante la infección, encontramos unas medias de 0,93 (SD 1,7) en el grupo de no respuesta inflamatoria, 0,5 (SD 0,58) en el grupo de sepsis leve, 1 (SD 0,9) en el grupo de sepsis grave, y de 4,1 (SD 2,02) en el de shock séptico (Figura 24). Si dicotomizamos la variable por encima y debajo de 1, encontramos que el 18,2% de los pacientes sin SIRS tenían un índice de Pitt superior a 1, el 4,2% de los del grupo de sepsis leve, el 27,3% de los del grupo de Sepsis grave, y el 100% de los del grupo de Shock séptico. Diferencias en ambos casos estadísticamente significativas ($p < 0.0001$).

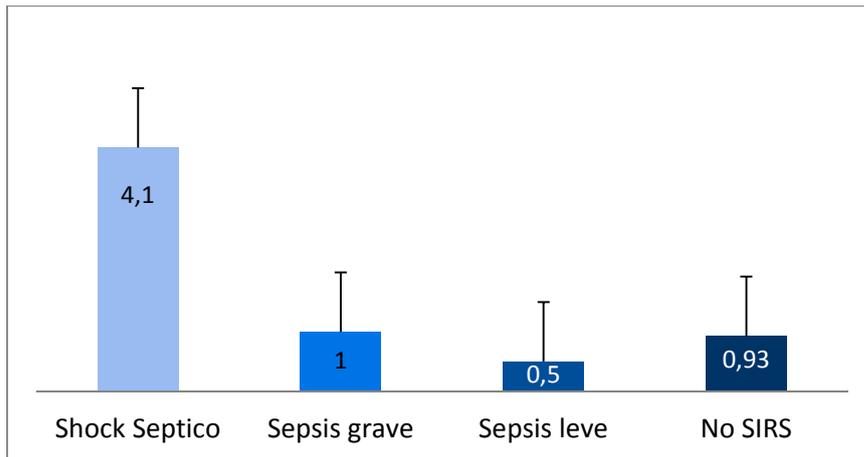


Figura 24. Índice de Pitt (media y SD) en función de la respuesta inflamatoria a la bacteremia

4.1.5. Tratamiento

El 91,7 % de los pacientes recibió tratamiento antibiótico, diez pacientes no recibieron ningún tratamiento antimicrobiano por decisión del equipo médico responsable, en el contexto de limitación del esfuerzo terapéutico. Entre los pacientes en los que se administró, el tratamiento empírico fue adecuado al aislamiento microbiológico posterior en el 99,1% (111 pacientes).

Los principios activos utilizados fueron los que se desglosan en la Tabla 6, si los agrupamos por familias farmacológicas encontramos que: el 44,14% de los profesionales que atendieron a estos pacientes antes de conocer el aislamiento microbiológico eligieron un betalactámico asociado a un inhibidor de betalactamasas (amoxicilina/clavulánico o piperacilina/tazobactam), el 33,3% eligieron un carbapenem, el 12,6% una cefalosporina de tercera generación o superior, el 7,2% una quinolona, el 1,8% un aminoglucósido, y tan solo un profesional (0,9%) eligió una polimixina (colistimetato de sodio) como tratamiento empírico.

Tabla 6. Antimicrobianos utilizados empíricamente

Principio Activo	Código ATC	Número de pacientes	% de pacientes
Amoxicilina/Clavulánico	J01CR02	12	10,8
Piperacilina/Tazobactam	J01CR05	37	33,3
Cefuroxima	J01DC02	1	0,9
Cefotaxima	J01DD01	1	0,9
Ceftriaxona	J01DD04	10	9,0
Cefepima	J01DE01	2	1,8
Meropenem	J01DH02	33	29,7
Ertapenem	J01DH03	3	2,7
Imipenem/Cilastatina	J01DH51	1	0,9
Tobramicina	J01GB01	1	0,9
Amikacina	J01GB06	1	0,9
Ciprofloxacina	J01MA02	1	0,9
Levofloxacino	J01MA12	7	6,3
Colistimetato de Sodio	J01XB01	1	0,9

El momento del inicio del tratamiento antimicrobiano empírico respecto al momento de la bacteriemia fue inferior a 12 horas en el 82% de la población. En el 36,3% de los casos el tratamiento empírico se inicio de forma inmediata, y hasta el 51,3% de los pacientes estaban tratados en la primera hora de ocurrida la bacteriemia. La media de tiempo hasta el inicio de tratamiento antimicrobiano empírico fue de 7,07 horas (SD 12,59). La curva del momento de inicio del tratamiento empírico se puede apreciar en la siguiente grafica (Figura 25).

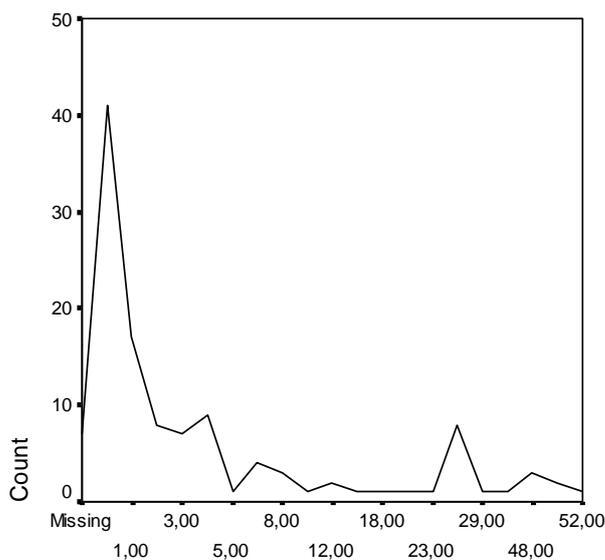


Figura 25. Horas desde la bacteriemia al inicio de tratamiento empírico

4.1.6. Evolución

El 73,1% de los pacientes fue dado de alta hospitalaria, y 32 (26,8%) pacientes fallecieron durante el ingreso. Tan solo un paciente de los 33 fallecidos totales lo hizo tras el alta hospitalaria, a los 28 días de la misma. El análisis pormenorizado de los pacientes fallecidos se expone más adelante en el epígrafe 4.8 de resultados.

La estancia hospitalaria tras el episodio de bacteriemia fue de 25,6 días de media, con una desviación estándar de 27 días.

De los 87 pacientes dados de alta hospitalaria, 8 (9,2%) tuvieron una recaída clínica de la infección por *E. coli*. Veintitrés pacientes (26,4%) reingresaron, 14 de ellos en el primer mes tras el alta hospitalaria, y los 9 restantes en el primer trimestre. De estos reingresos 3 se consideraron relacionados con el episodio de bacteriemia por *E. coli*, 3 posiblemente relacionados y el resto no relacionados.

4.2. Características de los pacientes sin datos de SRIS secundarios a bacteriemia por *E. coli*.

4.2.1. Demografía

De los 50 pacientes sin criterios de SRIS, el 44% (IC 95% 68,9-77,9) eran varones. La edad media de esta población era de 73,4 (SD 15,8 años). El 74% de la población tenía una edad superior a 65 años de edad.

La distribución etaria entre los sexos era la siguiente: los hombres tenían una edad media de 68 años, con unos rangos entre 33 y 96 años de edad. Entre las mujeres estos parámetros eran: media 77,2, rangos 46 y 93 años de edad. La distribución por edad y sexo se refleja en la siguiente gráfica (Figura 26).

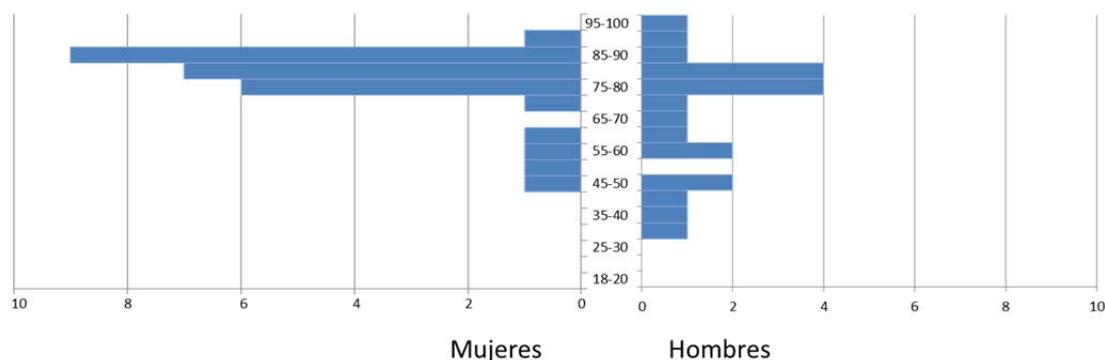


Figura 26. Distribucion por edad y género de pacientes sin criterios de SIRS.

El 75,5% (37) de los pacientes estaba ingresado en un servicio médico, el 12,2% (6) en un servicio quirúrgico y el 12,2% restante en una unidad de críticos en el momento de la evaluación de la bacteriemia.

4.2.2.Comorbilidades

El subgrupo de pacientes sin datos de SIRS tenía un índice de Charlson medio de 2,73 (SD 2,3). El 43,1% de la población tenía más de 2 puntos en dicha escala. Nueve pacientes tenían Diabetes Mellitus (17,6% del grupo), 17 algún tipo de Neoplasia solida (33%) y 9 neoplasia hematológica (17,6%).

El 35,3 % (24) de los pacientes sin datos de SIRS tenía algún tipo de condición inmunosupresora, ya fuera primaria, secundaria o farmacológica. Se incluyeron 1 (2%) paciente con infección crónica por VIH, 7 (13,7%) pacientes recibían tratamiento quimioterápico por enfermedad neoplásica sólida o hematológica. Además existían 8 (15,7%) pacientes en tratamiento corticoideo, 1 (2%) en tratamiento con fármacos biológicos y 7 (13,7%) con otros fármacos inmunosupresores

4.2.3.Origen y foco de la bacteriemia

Se evaluó si el origen de la bacteriemia era nosocomial, comunitario o relacionado con los cuidados sanitarios, así observamos que en el caso de 27 pacientes (52,9%) el origen de la infección era comunitario, en 20 (39,2%) era adquirido en el hospital y en los 4 casos restantes (7,8%) provenía de otros cuidados sanitarios no hospitalarios.

El tiempo medio entre el ingreso hospitalario y la bacteriemia en el caso de las infecciones nosocomiales fue de 7,1 días (SD 10,8 días).

Respecto a la fuente de la bacteriemia 18 (35,3%) casos eran de origen urinario, 24 (47,1%) de origen abdominal, 1 (2%) asociados a catéter y los 7 (13,7%) restantes de otros orígenes o desconocido.

4.2.4.Tratamiento

El 94 % (46) de los pacientes recibió tratamiento antibiótico, 5 pacientes no recibieron ningún tratamiento antimicrobiano por decisión facultativa. Todos los pacientes tratados recibieron un tratamiento empírico adecuado al aislamiento microbiológico posterior.

Los principios activos utilizados, agrupados por familias farmacológicas, en este grupo de pacientes fueron: betaláctamicos asociados a inhibidores de betalactamasas (amoxicilina/clavulánico o piperacilina/tazobactam) en el 44,6% (21) de los pacientes, carbapenem en el 36,1% (17), cefalosporina de tercera generación o superior en el 10,6% (5), el 6,4% (3) una quinolona y el 2,1% (1 paciente) un aminoglucósido.

El momento del inicio del tratamiento antimicrobiano empírico respecto al momento de la bacteriemia fue inferior a 12 horas en el 78,7% de grupo. En el 40% de los casos el tratamiento empírico se inicio de forma inmediata, y hasta el 51,1% de los pacientes estaban tratados en la primera hora de ocurrida la bacteriemia. La media de tiempo hasta el inicio de tratamiento antimicrobiano empírico fue de 6,4 horas (SD 10,8).

4.2.5.Evolución

El 70% de los pacientes de este grupo fue dado de alta hospitalaria, y 15 (30%) pacientes fallecieron durante el ingreso. La estancia hospitalaria tras el episodio de bacteriemia fue de 15 días de media (DE 13,5).

De los 35 pacientes dados de alta hospitalaria de este subgrupo, 8 (7,8%) tuvieron una recaída clínica de la infección por *E. coli*, sin diagnóstico microbiológico en el Hospital La Paz en ninguno de los casos.

Ocho pacientes (15,7%) reingresaron, de estos reingresos 2 se consideraron relacionados con el episodio de bacteriemia por *E. coli*, 2 posiblemente relacionados y el resto no relacionados.

4.3. Características de los pacientes con Sepsis leve secundaria a bacteriemia por *E. coli*

4.3.1. Demografía

De los 24 pacientes con sepsis leve, el 50% eran varones. La edad media de esta población era de 71 (SD 15,9 años). El 78% de la población tenía una edad superior a 65 años de edad.

La distribución etaria entre los sexos era la siguiente: los hombres tenían una edad media de 70,5 (SD 10,51) años, con unos rangos entre 48 y 84 años de edad. Entre las mujeres estos parámetros eran: media 71 (SD 20), rangos 30 y 93 años de edad. La distribución por edad y sexo se refleja en las siguientes graficas (Figura 27)

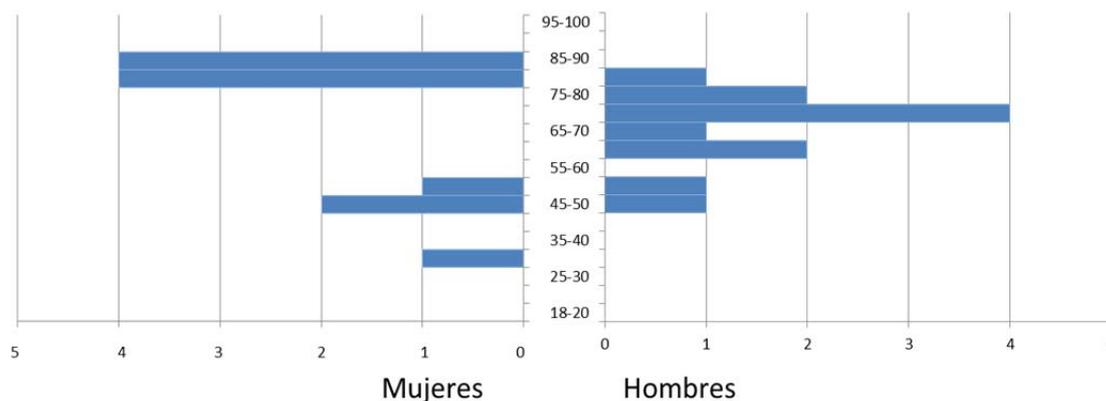


Figura 27. Distribución por edad y género de pacientes con SIRS leve.

El 65,2% (15) de los pacientes estaba ingresado en un servicio médico, el 30,4 % (7) en un servicio quirúrgico y solo 1 paciente (4,3%) en una unidad de críticos en el momento de la evaluación de la bacteriemia.

4.3.2. Comorbilidades

El subgrupo de pacientes con datos de sepsis leve tenía un índice de Charlson medio de 3,58 (SD 2,1). El 70,8% de la población tenía más de 2 puntos en dicha escala. Catorce pacientes tenían algún tipo de Neoplasia solida (58,3%), 3 Diabetes Mellitus (12,5%) del grupo), y 1 neoplasia hematológica (4,3%).

El 25% (6) de los pacientes con datos de sepsis leve tenía algún tipo de condición inmunosupresora, ya fuera primaria, secundaria o farmacológica. Se incluyeron 1 (4,2%) paciente con infección crónica por VIH, 4 (16,7%) pacientes recibían tratamiento quimioterápico por enfermedad neoplásica sólida o hematológica. Además existían 2 (8,3%) pacientes en tratamiento corticoideo.

4.3.3. Origen y foco de la bacteriemia

Se evaluó si el origen de la bacteriemia era nosocomial, comunitario o relacionado con los cuidados sanitarios, así observamos que en el caso de 12 pacientes (50%) el origen de la infección era nosocomial, en 8 (33,3%) era comunitario y en los 4 casos restantes (16,7%) provenía de otros cuidados sanitarios no hospitalarios.

El tiempo medio entre el ingreso hospitalario y la bacteriemia en el caso de las infecciones nosocomiales fue de 28 días (SD 31,4 días).

Respecto a la fuente de la bacteriemia 8 (33,3%) casos eran de origen urinario, 12 (50%) de origen abdominal y los 4 (16,7%) restantes de otros orígenes o desconocido.

4.3.4. Tratamiento

El 95,5 % (22) de los pacientes recibió tratamiento antibiótico, uno de ellos inadecuado. Dos pacientes no recibieron ningún tratamiento antimicrobiano por decisión facultativa.

Los principios activos utilizados, agrupados por familias farmacológicas, en este grupo de pacientes fueron: betalactámicos asociados a inhibidores de betalactamasas (amoxicilina/clavulánico o piperacilina/tazobactam) en el 27,7% (6) de los pacientes, carbapenem en el 33,36% (8), cefalosporina de tercera generación o superior en el 22,72% (5) y el 13,63% (3) una quinolona.

El momento del inicio del tratamiento antimicrobiano empírico respecto al momento de la bacteriemia fue inferior a 12 horas en el 81,8% de grupo. En el 22,7% de los casos el tratamiento empírico se inicio de forma inmediata, y hasta el 45,5% de los pacientes estaban tratados en la primera hora de ocurrida la bacteriemia. La media de tiempo hasta el inicio de tratamiento antimicrobiano empírico fue de 9,18 horas (SD 15).

4.3.5. Evolución

El 83,3% de los pacientes de este grupo fue dado de alta hospitalaria, y 4 (16,7%) pacientes fallecieron durante el ingreso. La estancia hospitalaria tras el episodio de bacteriemia fue de 15,8 días de media (SD 16,9, rango 1-73).

Cuatro pacientes (16,7%) reingresaron, de estos reingresos 1 se consideró relacionado con el episodio de bacteriemia por *E. coli* y 3 no relacionados. No hubo episodios de recaídas clínicas de la infección por *E. coli*.

4.4. Características de los pacientes con Sepsis grave secundaria a bacteriemia por *E. coli*

4.4.1. Demografía

De los 34 pacientes con sepsis grave, el 52,4% eran varones. La edad media de esta población era de 68,8 años (SD 18,5). El 64,7% de la población tenía una edad superior a 65 años de edad.

La distribución etaria entre los sexos era la siguiente: los hombres tenían una edad media de 73,2 (SD 12,1) años, con unos rangos entre 55 y 95 años de edad. Entre las mujeres estos parámetros eran: media 63,9 (SD 23,2), rangos 20 y 98 años de edad. La distribución por edad y sexo se refleja en la siguiente gráfica (Figura 28).

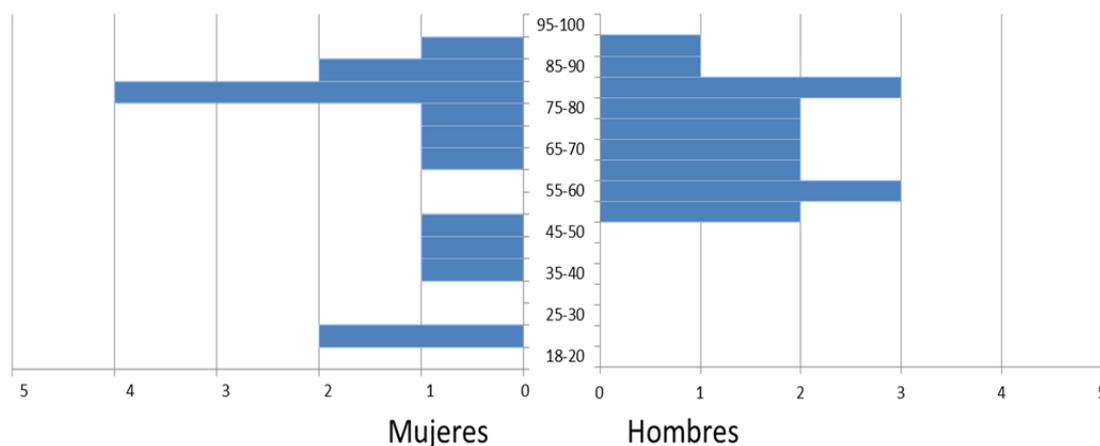


Figura 28. Distribución por edad y género de pacientes con SIRS grave

El 61,7% (21) de los pacientes estaba ingresado en un servicio médico, el 23,5% (8) en un servicio quirúrgico y 5 pacientes (14,7%) en una unidad de críticos en el momento de la evaluación de la bacteriemia

4.4.2. Comorbilidades

El subgrupo de pacientes con datos de sepsis grave tenía un índice de Charlson medio de 3,1 (SD 2,3). El 58,8% de la población tenía más de 2 puntos en dicha escala. Doce pacientes tenían algún tipo de Neoplasia solida (35,3%), 11 Diabetes Mellitus (32,4%), y 1 neoplasia hematológica (2,9%).

El 23,5% (8) de los pacientes con datos de sepsis grave tenía algún tipo de condición inmunosupresora, 7 (20,6%) pacientes recibían tratamiento quimioterápico por enfermedad neoplásica sólida o hematológica, y un paciente estaba en tratamiento corticoideo.

4.4.3. Origen y foco de la bacteriemia

Se evaluó si el origen de la bacteriemia era nosocomial, comunitario o relacionado con los cuidados sanitarios, así observamos que en el caso de 14 pacientes (41,2%) el origen de la infección era nosocomial, en 16 (47,1%) era comunitario y en los 4 casos restantes (11,8%) provenía de otros cuidados sanitarios no hospitalarios.

El tiempo medio entre el ingreso hospitalario y la bacteriemia en el caso de las infecciones nosocomiales fue de 8,7 días (SD 17,15 días).

Respecto a la fuente de la bacteriemia 12 (35,3%) casos eran de origen urinario, 14 (41,2%) de origen abdominal, 2 (5,9%) asociado a cateter y los 6 (17,6%) restantes de otros orígenes o desconocido

4.4.4. Tratamiento

El 91,1 % (31) de los pacientes recibió tratamiento antibiótico adecuado al aislamiento microbiológico. Tres pacientes no recibieron ningún tratamiento antimicrobiano por decisión facultativa.

Los principios activos utilizados, agrupados por familias farmacológicas, en este grupo de pacientes fueron: betalactámicos asociados a inhibidores de betalactamasas (amoxicilina/clavulánico o piperacilina/tazobactam) en el 61,2% (19) de los pacientes, carbapenem en el 12,9% (4), cefalosporina de tercera generación o superior en el 12,9% (4), quinolonas en el 6,4% (2) y colistimetato de sodio y animoglucosido en un paciente cada uno.

El momento del inicio del tratamiento antimicrobiano empírico respecto al momento de la bacteriemia fue inferior a 12 horas en el 87,9% de grupo. En el 36,4% de los casos el tratamiento empírico se inicio de forma inmediata, y hasta el 51,5% de los pacientes estaban tratados en la primera hora de ocurrida la bacteriemia. La media de tiempo hasta el inicio de tratamiento antimicrobiano empírico fue de 7 horas (SD 14,1).

4.4.5. Evolución

El 70,5% de los pacientes de este grupo fue dado de alta hospitalaria, y 10 (29,4%) pacientes fallecieron durante el ingreso. La estancia hospitalaria tras el episodio de bacteriemia fue de 13,8 días de media (SD 13,5).

Ocho pacientes (33,3%) reingresaron, de estos ninguno se consideró relacionado con la bacteriemia. Hubo 1 episodio de recaid clínicas de la infección por *E. coli*.

4.5. Características de los pacientes con Shock séptico secundario a bacteriemia por *E. coli*

4.5.1. Demografía

De los 11 pacientes con criterios de Shock Septico el 63,9% eran varones. La edad media de esta población era de 64 (SD 14). El 54,4% de la población tenía una edad superior a 65 años de edad.

La distribución etaria entre los sexos era la siguiente: los hombres tenían una edad media de 61,2 (SD 13,6) años, con unos rangos entre 42 y 77 años de edad. Entre las mujeres estos parámetros eran: media 69 (SD 15,1), rangos 50 y 87 años de edad. La distribución por edad y sexo se refleja en la siguiente gráfica (Figura 29).

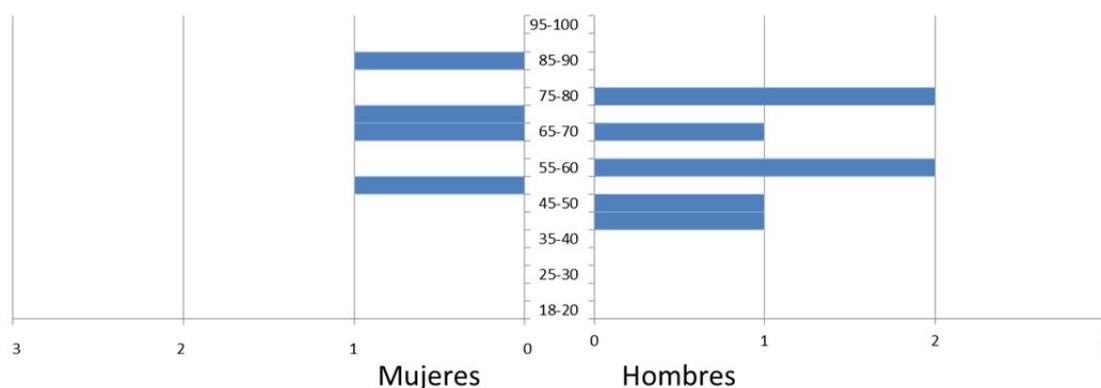


Figura 29. Distribución por edad y género de pacientes con Shock Séptico

4.5.2.Comorbilidades

El subgrupo de pacientes con datos de sepsis leve tenía un índice de Charlson medio de 2,7 (SD 1,4). El 54,5% de la población tenía más de 2 puntos en dicha escala. Cinco pacientes tenían algún tipo de Neoplasia solida, 1 Diabetes Mellitus y otro neoplasia hematológica. Dos pacientes tenían tratamiento quimioterápico por enfermedad neoplásica sólida o hematológica.

4.5.3.Origen y foco de la bacteriemia

En la evaluación del origen de la bacteriemia observamos que en el caso de 7 pacientes el origen de la infección era nosocomial, en 2 era comunitario y en los 2 casos restantes provenía de otros cuidados sanitarios no hospitalarios.

El tiempo medio entre el ingreso hospitalario y la bacteriemia en el caso de las infecciones nosocomiales fue de 12 días (SD 14,9 días).

Respecto a la fuente de la bacteriemia 2 casos eran de origen urinario, 7 de origen abdominal y los 2 restantes de otros orígenes o desconocido.

4.5.4.Tratamiento

Todos los pacientes recibieron tratamiento antibiótico adecuado. Ocho pacientes recibieron Meropenem y 3 Piperacilina/tazobactam.

El momento del inicio del tratamiento antimicrobiano empírico respecto al momento de la bacteriemia fue inferior a 12 horas en el 81,8% de grupo. Cinco pacientes recibieron tratamiento inmediato y 2 en la primera hora. La media de tiempo hasta el inicio de tratamiento antimicrobiano empírico fue de 5,7 horas (SD 10,4).

4.5.5.Evolución

Cuatro de los 11 pacientes con Shock Séptico fallecieron. Tras el alta hospitalaria 2 pacientes reingresaron por motivos no relacionados con la bacteriemia, otro paciente reingreso por motivo posiblemente relacionado con la misma.

La estancia hospitalaria tras el episodio de bacteriemia fue de 21,3 días de media (SD 18,6).

4.6. Resumen de las características de los grupos en función de la respuesta inflamatoria a la bacteriemia: no SIRS, sepsis leve, sepsis grave y shock séptico

4.6.1. Demografía

La edad media de la población era de 70,7 años. Los pacientes del grupo de shock séptico eran más jóvenes, con una edad media de 64 (SD 14) que los pacientes incluidos en el resto de grupos de respuesta inflamatoria a la bacteriemia, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Respecto a la distribución por sexos en los distintos grupos de respuesta ante la sepsis, existe un ligero predominio de varones conforme aumenta la gravedad de la respuesta inflamatoria frente a la bacteriemia como se muestra en la Tabla 8, aunque esta tendencia no fue estadísticamente significativa.

En referencia al servicio de ingreso, se aprecia una tendencia a mayor número de pacientes leves con ingresos en servicios médicos frente a mayor número de pacientes graves en servicios quirúrgicos. Por las propias características de las unidades de pacientes críticos, hubo mayor proporción de pacientes con episodios graves en estas unidades, como se aprecia en la Tabla 7. Ninguna de estas diferencias resultó estadísticamente significativa.

Tabla 7. Características demográficas en función de respuesta inflamatoria

	No SIRS n=50	Sepsis Leve n=24	Sepsis Grave n=34	Shock Séptico n=11
Sexo varón, %	44	50	52,9	63,9
Edad, media (SD)	73,4 (15,8)	71 (15,9)	68,85(18,5)	64,09 (14)
Edad >65 años, %	74	70,8	64,7	54,4
Servicio de Ingreso				
Médico, n (%)	37 (75,5)	15 (65,2)	21 (61,7)	4 (36,3)
Quirúrgico, n (%)	6 (12,2)	7 (30,4)	8 (23,5)	5 (45,4)
U. Críticos, n (%)	6 (12,2)	1 (4,3)	5 (14,7)	2 (18,1)

Sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos

4.6.2. Comorbilidades

Como se puede apreciar en la Tabla 8 no existían diferencias en las patologías asociadas previas a la aparición de la bacteriemia en ninguno de los grupos, que pudieran determinar una distinta respuesta a la sepsis.

La única diferencia estadísticamente significativa es la mayor presencia de otros fármacos inmunosupresores distintos de corticoides en pacientes sin datos de respuesta inflamatoria sistémica en respuesta a la bacteriemia. En el grupo de pacientes sin SRIS hubo siete (13.7%) de ellos que estaban en tratamiento con inmunosupresores distintos de corticoides (metotrexate, azatioprina, ciclofosfamida), mientras que en el resto de grupos no había ningún paciente tratado con estos fármacos ($p=0.018$).

Respecto al pronóstico vital previsible independiente del episodio de bacteriemia investigado, medido por el índice McCabe-Jackson, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Tabla 8. Comorbilidades en función de respuesta inflamatoria

	No SIRS n=50	Sepsis Leve n=24	Sepsis Grave n=34	Shock Séptico n=11
Índice de Charlson, media (SD)	2,73 (2,3)	3,58 (2,1)	3,15 (2,3)	2,7 (1,4)
Índice de Charlson >2,%	43,1	70,8	58,8	54,5
Diabetes mellitus, n (%)	9 (17,6%)	3 (12,5%)	11 (32,4%)	1 (9,1%)
Cáncer n (%)	17 (33,3%)	14 (58,3%)	12 (35,3%)	5 (45,5%)
Neo Hematológica n (%)	9 (17,64%)	1 (4,2%)	1 (2,9%)	1 (9,1%)
Inmunodepresión global, n (%)	24 (35,3%)	6 (25%)	8 (23,5%)	2 (18,18%)
VIH, n (%)	1 (2%)	1 (4,2%)	0	0
Corticoides, n (%)	8 (15,7%)	2 (8,3%)	1 (2,9%)	0
Otros fármacos IS, n (%)	7 (13,7%)*	0	0	0
Biológicos, n (%)	1 (2%)	0	0	0
Quimioterapia, n (%)	7 (13,7%)	4 (16,7%)	7 (20,6%)	2 (18,2%)
Índice Mc Cabe Jackson				
No fatal, n (%)	21 (42%)	8 (33,3%)	15 (44,1%)	3 (27,3%)
Posiblemente fatal, n (%)	22 (44%)	9 (37,5%)	16 (47,1%)	6 (54,5%)
Rápidamente fatal, n (%)	7 (14%)	7(29,2%)	3 (8,8%)	2 (18,2%)

* $p=0,018$; resto de comparaciones sin diferencias significativas entre los grupos.

4.6.3. Origen y foco de la bacteriemia

No se apreció ninguna diferencia en el origen nosocomial, comunitario o asociado a los cuidados sanitarios entre los distintos grupos de respuesta inflamatoria a la bacteriemia. Tampoco se evidenciaron diferencias en la fuente clínica de la bacteriemia (Tabla 9).

Tabla 9. Origen y foco de la bacteriemia en función de la respuesta inflamatoria

	No SIRS 50	Sepsis leve 24	Sepsis grave 34	Shock séptico 11
Origen de bacteriemia				
Nosocomial	20 (39,2%)	12 (50%)	14 (41,2%)	7 (63,6%)
Comunitaria	27 (52,9%)	8 (33,3%)	16 (47,1%)	2 (18,2 %)
Rel cuidados sanitarios	4 (7,8%)	4 (16,7%)	4 (11,8%)	2 (18,2%)
Fuente de la bacteriemia				
Urinaria	18 (35,3%)	8 (33,3%)	12 (35,3%)	2 (18,2%)
Abdominal	24 (47,1%)	12 (50%)	14 (41,2%)	7 (63,6%)
Catéter	1 (2%)	0	2 (5,9%)	1 (9,1%)
Otros o desconocido	7 (13,7%)	4 (16,7%)	6 (17,6%)	1 (9,1%)

Sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos

4.6.4. Evolución y Tratamiento

Como era de esperar, el índice de Pitt fue significativamente más alto en los paciente con shock séptico que en el resto de grupos de forma significativa, con una correlación lineal significativa entre ellos, tanto en forma de variable continua como categorizada por encima o debajo de 2, como se aprecia en la Tabla 11.

Respecto al análisis de los pacientes tratados, hay que señalar que por decisión de los facultativos responsables, algunos pacientes no recibieron tratamiento antimicrobiano alguno, ni empírico ni dirigido. Estos casos se eliminaron del análisis referente a la adecuación del tratamiento ya que no lo recibieron. Estos pacientes se distribuyen como sigue: 5 sin criterios de SRIS, 2 con sepsis leve, 3 con sepsis grave y ninguno en el grupo de shock séptico.

En el resto de casos en que se sí se instauró tratamiento antibiótico empírico, 110 pacientes; excepto en un paciente con sepsis leve, este fue adecuado (109 pacientes, el 99% de todos los tratados) al resultado del antibiograma de la cepa en cuestión y en la forma y dosis administradas.

El momento de inicio del tratamiento de la bacteriemia no fue estadísticamente distinto entre los grupos estudiados como se aprecia en la Tabla 10.

Tabla 10. Datos relativos al episodio de bacteriemia en función de la respuesta inflamatoria

	No sepsis 50	Sepsis leve 24	Sepsis grave 34	Shock séptico 11	p
Índice de Pitt, media (SD)	0,93 (1,7)	0,5 (0,58)	1 (0,9)	4,11 (2,02)	<0.0001
Índice de Pitt >1, n (%)	8 (18,2)	1 (4,2)	9 (27,3)	9 (100)	<0.0001
Tratamiento adecuado, n (%)	46 (100)	21(95,5)	31 (100)	11 (100)	NS
Horas desde Bacteriemia					
hasta inicio de tratamiento, media (SD)	6,44 (10,88)	9,18 (15)	7,03 (14)	5,7 (10,47)	NS

En la Tabla 11 se puede apreciar los distintos principios activos usados en el tratamiento de los pacientes en función de los distintos grupos de respuesta a la bacteriemia.

Tabla 11. Principios activos usados en el tratamiento de todos los pacientes en función de respuesta inflamatoria

	No SRIS n=46	Sepsis leve n=22	Sepsis grave n=31	Shock séptico n=11
Amoxicilina/clavulánico o piperacilina/tazobactam, n (%)	21 (44.6)	6 (27,7)	19 (61.3)	3 (27.3)
Carbapenem, n (%)	17 (36,2)	8 (33,4)	4 (12.9)	8 (72.7)
Cefalosporina ≥ 3ª Gen , n (%)	5 (10,6)	5 (22,7)	4 (12.9)	0
Quinolona, n (%)	3 (6,4)	3 (13,6)	2 (6.4)	0
Aminoglucósido, n (%)	1 (2,1)	0	1 (3,2)	0
Colistimetato sódico, n (%)	0	0	1 (3,2)	0

Sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos

La mortalidad en los distintos grupos de respuesta a la bacteriemia fue como sigue: 15 fallecidos no tenían criterios de sepsis, 4 tenían criterios de sepsis leve, 10 de Sepsis grave y 4 de Shock séptico, representando el 32,6%, 18,18%, 32,25% y 36,36% respectivamente de sus poblaciones, según se muestra en el Figura 30.

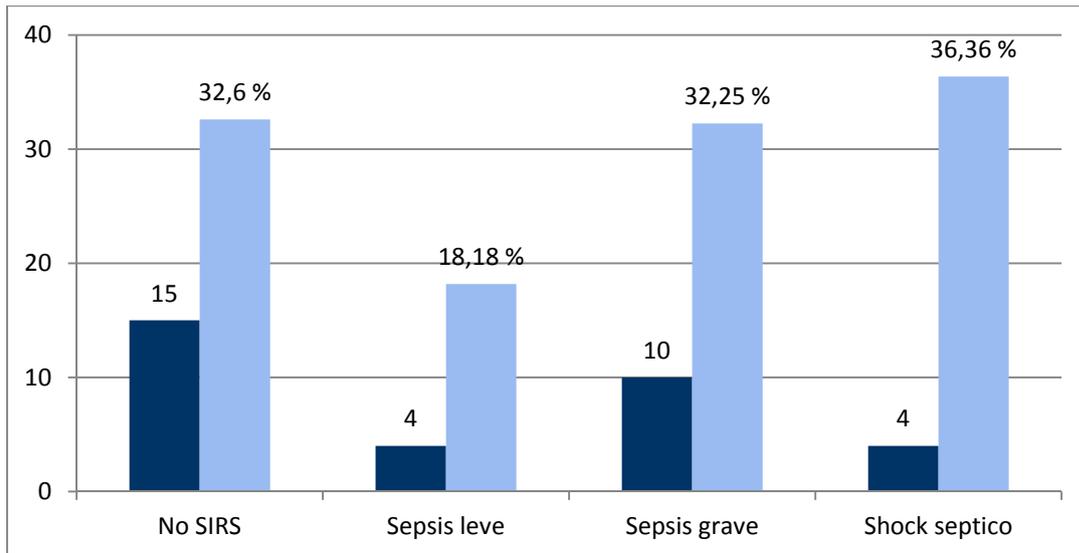


Figura 30. Mortalidad según respuesta inflamatoria (número y porcentaje)

Tabla 12. Características clínicas globales

	Todos 119	No SIRS 50	Sepsis Leve 24	Sepsis Grave 34	Shock Séptico 11	p
Sexo varón, %	49,6	44	50	52,9	63,9	NS
Edad media (SD)	70,7 (16,5)	73,4 (15,8)	71,0 (15,9)	68,8(18,5)	64,1 (14,)	NS
Edad >65 años,%	68,9	74	70,8	64,7	54,4	NS
Índice de Charlson, media (SD)	3 (2,2)	2,73 (2,3)	3,58 (2,1)	3,15 (2,3)	2,7 (1,4)	NS
Índice de Charlson >2, %	54,2	43,1	70, 8	58,8	54,5	NS
Diabetes mellitus, n (%)	24 (20)	9 (17,6)	3 (12,5)	11 (32,4)	1 (9,1)	NS
Cáncer, n (%)	48 (40)	17 (33,3)	14 (58,3)	12 (35,3)	5 (45,5)	NS
Neo Hematológica, n (%)	12 (10)	9 (17,64)	1 (4,2)	1 (2,9)	1 (9,1)	NS
Inmunodepresión global, n (%)	34 (28,3)	24 (35,3)	6 (25)	8 (23,5)	2 (18,18)	NS
VIH, n (%)	2 (1,7)	1 (2)	1 (4,2)	0	0	NS
Corticoides, n (%)	11 (9,2)	8 (15,7)	2 (8,3)	1 (2,9)	0	NS
Otros fármacos IS, n (%)	7 (5,8)	7 (13,7)	0	0	0	0.018
Biológicos, n (%)	1 (0,8)	1 (2)	0	0	0	NS
Quimioterapia, n (%)	7 (5,8)	7 (13,7)	4 (16,7)	7 (20,6)	2 (18,2)	NS
Servicio de Ingreso						NS
Médico, n (%)	77 (65,8)	37 (75,5)	15 (65,2)	21 (61,7)	4 (36,3)	NS
Quirúrgico, n (%)	26 (22,2)	6 (12,2)	7 (30,4)	8 (23,5)	5 (45,4)	NS
Unidades de Críticos, n (%)	14 (12)	6 (12,2,)	1 (4,3)	5 (14,7)	2 (18,1)	NS
Exitus global, n (%)	33 (27.7)	15 (32.6)	4 (18.1)	10 (32.2)	4 (36.3)	NS
Mc Cabe Jackson:						
No fatal, n (%)	47 (39,5)	21 (42)	8 (33,3)	15 (44,1)	3 (27,3)	NS
Posiblemente fatal, n (%)	53 (44,5)	22 (44)	9 (37,5)	16 (47,1)	6 (54,5)	NS
Rápidamente fatal, n (%)	19 (16)	7 (14)	7(29,2)	3 (8,8)	2 (18,2)	NS
Estancia Hospitalaria, media (SD)	25,6 (27)	20,18 (16,7)	28 (31,4)	27,1 (34,6)	39 (32,8)	NS
Días estancia hasta la bacteriemia, media (SD)	9,2 (15,1)	7,18 (10,8)	12,9(19,2)	8,7 (17,1)	12 (14,9)	NS

Tabla 13. Características globales de la bacteriemia

	Todos	No sepsis	Sepsis leve	Sepsis grave	shock séptico	p
	119	50	24	34	11	
Índice de Pitt, media (SD)	1,11 (1,6)	0,93 (1,7)	0,5 (0,58)	1 (0,9)	4,11 (2,02)	<0.0001
Índice de Pitt >1, n (%)	27 (24,5)	8 (18,2)	1 (4,2)	9 (27,3)	9 (100)	<0.0001
Origen de bacteriemia						
Nosocomial, n (%)	53 (44,2)	20 (39,2)	12 (50)	14 (41,2)	7 (63,6)	NS
Comunitaria, n (%)	53 (44,2)	27 (52,9)	8 (33,3)	16 (47,1)	2 (18,2)	NS
Relacionada con cuidados sanitarios, n (%)	14 (11,7)	4 (7,8)	4 (16,7)	4 (11,8)	2 (18,2)	NS
Fuente de la bacteriemia						
Urinaria, n (%)	40 (33,3)	18 (35,3)	8 (33,3)	12 (35,3)	2 (18,2)	NS
Abdominal, n (%)	57 (47,5)	24 (47,1)	12 (50)	14 (41,2)	7 (63,6)	NS
Catéter, n (%)	4 (3,3)	1 (2)	0	2 (5,9)	1 (9,1)	NS
Otros o desconocido, n (%)	17 (14,2)	7 (13,7)	4 (16,7)	6 (17,6)	1 (9,1)	NS
Tratamiento adecuado, n (%)	111 (99,1)	47 (100)	21(95,5)	32 (100)	11 (100)	NS
Horas desde Bacteriemia hasta inicio de tratamiento, media (SD)	7,1 (12,5)	6,4 (10,8)	9,2 (15)	7,0 (14)	5,7 (10,4)	NS

4.7. Resumen de las características de los grupos en función de la respuesta inflamatoria a la bacteriemia: casos leves vs casos graves.

Ante el escaso número de pacientes con shock séptico en la serie y para poder evaluar algún tipo de asociación entre los factores microbiológicos estudiados y la respuesta a la sepsis del huésped, decidimos dicotomizar la respuesta a la sepsis entre leve -categoría que incluyó pacientes sin datos de sepsis o con sepsis leve- y grave -categoría que incluyó pacientes con datos de sepsis grave y shock séptico- según las definiciones previas, como se ha comentado previamente en la metodología del estudio.

De este modo, los pacientes quedaron distribuidos como sigue: 74 casos leves y 45 casos graves.

Describiré a continuación las principales características de estos dos grupos, dado que van a ser la variable principal en la búsqueda de determinantes microbiológicos de gravedad y/o pronóstico.

4.7.1. Demografía y comorbilidades

Tal y como se muestra en la Tabla 14 los casos leves y graves no diferían estadísticamente en las características demográficas, de comorbilidad, ni en el grado de inmunosupresión.

La distribución por sexos de ambos grupos fue similar, con un discreto predominio de varones en los casos graves (55.6%) frente a los casos leves (45,6%), diferencia no estadísticamente significativa.

La edad media del grupo de casos leves fue mayor que la de los casos graves (72.6 años vs 67.6), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

Respecto a la comorbilidad de ambas poblaciones podemos decir que fue muy similar tanto medida a través del índice de Charlson, como si consideramos patologías concretas que pueden influenciar en la morbimortalidad de la sepsis, como pueden ser la diabetes mellitus y la presencia de neoplasia sólidas o hematológicas.

Aunque no se encontraron diferencias en el grado de inmunosupresión global de forma estadísticamente significativa (41,8% de los casos leves vs 22,2% de los casos graves, $p=0.299$), cuando se analizaron las distintas causas de inmunosupresión,

se encontró un uso significativamente mayor de corticoides (13.3% vs 2.2%, $p=0.051$) y de otros fármacos inmunosupresores (9.3% vs 0, $p=0.044$) entre los casos leves, comparados con los casos graves.

Respecto al servicio de ingreso, aunque hubo un mayor número de pacientes leves ingresados en servicios médicos, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

El pronóstico vital previo al episodio de bacteriemia fue similar en ambos grupos con aproximadamente el 40% (39,2% en casos leves y 40% en casos graves) de los casos con pronóstico no fatal, otro 40% (41,9% y 48%) rápidamente fatal, y en torno al 20% (18,9% y 11,1%) inmediatamente fatal.

El número de fallecidos en el grupo de casos leves fue de 23 (que representa el 30,7% del total de casos leves), y de 16 (35,6%) en el grupo de casos graves, diferencias no significativas.

Tabla 14. Características epidemiológicas de los casos leves y graves

	Casos Leves n=74	Casos Graves n=45	P
Sexo varón %	45,6	55,6	NS
Edad, mediana (SD)	72,6 ± 15,7	67,69± 17,5	NS
Edad >65 años, %	73	62,2	NS
Índice de Charlson, media (SD)	3 (2,27)	3,04 (2,1)	NS
Índice de Charlson >2, n (%)	39 (52)	26 (57,2)	NS
Diabetes mellitus, n (%)	12 (16)	12 (26,7)	NS
Cáncer, n (%)	31 (41,89)	17 (37,8)	NS
Neo Hematológica, n (%)	10 (13,3)	2 (4,44)	NS
Inmunodepresión global, n (%)	31 (41,89)	10 (22,22)	NS
VIH, n (%)	2 (2,7)	0	NS
Corticoides, n (%)	10 (13,3)	1 (2,2)	0.051
Otros fármacos, n (%)	7 (9,3)	0	0.044
Biológicos, n (%)	1 (1,3)	0	NS
Quimioterapia, n (%)	11 (14,7)	9 (20)	NS
Servicio de Ingreso			NS
Médico, n (%)	52 (70,27)	25 (55,5)	
Quirúrgico, n (%)	13 (17,56)	13 (28,88)	
Unidades Críticas, n (%)	7 (9,45)	7 (15,55)	
Exitus global, n (%)	23 (30,7)	16 (35,6)	NS
McCabe Jackson			NS
No fatal, n (%)	29 (39,2)	18 (40)	
Rápidamente fatal, n (%)	31 (41,9)	22 (48,9)	
Inmediatamente fatal, n (%)	14 (18,9)	5 (11,1)	
Estancia Hospitalaria, media (SD)	22,87 (22,69)	30,11 (34,25)	NS
Días estancia hasta la bacteriemia, media (SD)	9,06 (14,28)	9,59 (16,57)	NS

4.7.2. Episodio de bacteriemia: Origen, foco, tratamiento y evolución.

No se apreció ninguna diferencia en el origen nosocomial, comunitario o asociado a los cuidados sanitarios entre los distintos grupos de respuesta inflamatoria a la bacteriemia, ni en la fuente clínica de la bacteriemia como se ve en la Tabla 15.

Respecto a la repercusión sistémica de la bacteriemia por *E. coli*, medida por el índice de Pitt, se evidenciaron las diferencias derivadas de la propia definición de la variable, dando validez interna a los datos recogidos. El índice de Pitt fue mayor tanto en número absoluto (1.66 vs 0.77, $p=0.005$) como el porcentaje de pacientes con un índice de Pitt superior a uno (42.9% vs 13.2%, $p=0.001$) en los casos graves respecto a los casos leves, siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 15. Características de los episodios bacteriémicos en casos leves y graves

	Casos Leves n=74	Casos Graves n=45	p
Índice de Pitt	0,77 (1,4)	1,66 (1,7)	0.005
Índice de Pitt >1, n (%)	9 (13,2)	18 (42,9)	0.001
Origen de bacteriemia			NS
Nosocomial, n (%)	32 (42,7)	21 (46,7)	
Comunitaria, n (%)	35 (46,7)	18 (40)	
Rel cuidados sanitarios, n (%)	8 (10,7)	6 (13,3)	
Fuente de la bacteriemia			NS
Urinaria, n (%)	26 (34,7)	14 (31,1)	
Abdominal, n (%)	36 (48)	21 (46,7)	
Catéter, n (%)	1 (1,3)	3 (6,7)	
Otros, n (%)	11 (14,7)	6 (13,3)	
Tratamiento adecuado, n (%)	68 (98,6)	43 (100)	NS
Horas desde Bacteriemia hasta inicio tto, media (SD)	7,31 (12,26)	6,7 (13,23)	NS

El tratamiento antibiótico instaurado fue adecuado en todos los casos en que este se instauró excepto en un paciente del grupo de casos leves. En 6 pacientes leves y en dos graves el equipo clínico no instauró ningún tratamiento antibiótico al paciente. El tratamiento antibiótico se inició de forma más precoz en los casos graves que en los leves (7.31h vs 6.7h), sin que estas diferencias fueran significativas estadísticamente.

Los principios activos usados en el tratamiento de los pacientes fueron como se refleja en la Tabla 16.

Tabla 16. Tratamientos antibióticos instaurados, por grupos farmacoterapauticos, en casos leves y graves.

	Casos Leves n tratada=69	Casos Graves n tratada=42
Amoxicilina/clavulánico o piperacilina/tazobactam, n (%)	27 (39.1)	22 (52.4)
Cefalosporina \geq 3ª Gen, n (%)	10 (14.5)	4 (9.5)
Carbapenem, n (%)	25 (36.2)	12 (28.6)
Quinolona, n (%)	6 (8.7)	1 (2.3)
Aminoglucósido, n (%)	1 (1.4)	1 (2.3)
Colistina, n (%)	0	1 (2.3)

Sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos

4.8. Análisis de la mortalidad

El 27,73% (33) de los pacientes incluidos en el estudio fallecieron durante el periodo de seguimiento del mismo. El 66,7% de los fallecidos eran varones, y su edad media fue 68 años (SD 17 años).

Se consideró que en el 63,6% (21 pacientes) de los pacientes fallecidos el exitus no estaba relacionado con el episodio de bacteriemia por *E. coli*. En el caso de 7 (21,2%) pacientes se consideró como la causa del fallecimiento, en 4 (12,1%) como posible, y en un paciente (3%) como probable (Figura 31).

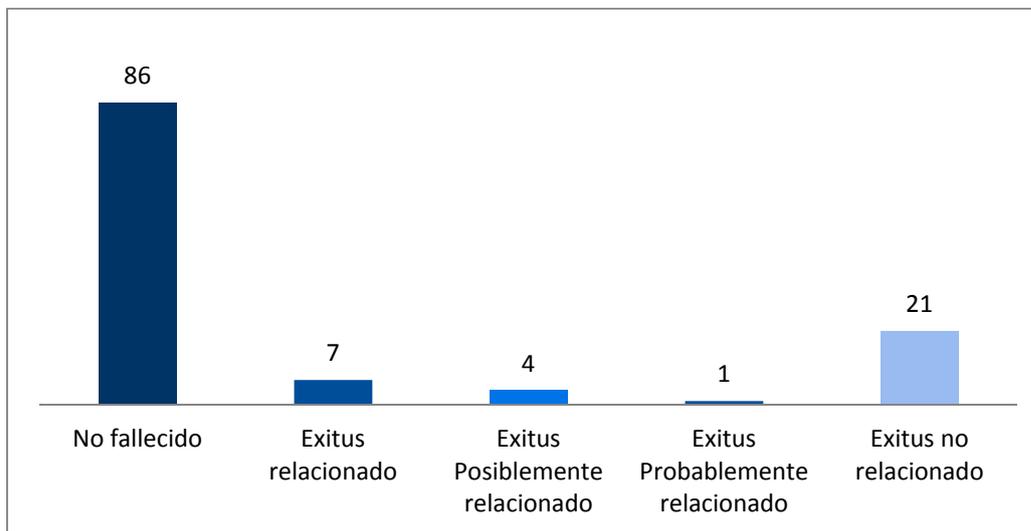


Figura 31. Número de fallecidos en función de su relación con el episodio de bacteriemia.

El 69,7% (23 pacientes) estaban ingresados en servicios médicos, el 12,7% (4) en servicios quirúrgicos, y el 18,2% (4) en áreas de críticos. Pormenorizando más estos datos encontramos que la mortalidad se concentra en 4 servicios fundamentalmente: Medicina Interna (12,1%, 4 casos), Unidad de Cuidados Paliativos

(15,2%, 5 casos), Hematología (15,2%, 5 casos), y Cirugía General (12,1%, 4 casos). De los 14 pacientes que ingresaron en Unidades de Críticos, 6 de ellos fallecieron, 3 en la Unidad de Cuidados Intensivos y otros 3 en la Unidad de Hemorragia digestiva.

La comorbilidad de los pacientes fallecidos fue elevada, con un índice de Charlson medio de 4 (SD 1,9). El 75,8% de los fallecidos tenía un índice de Charlson superior a 2 puntos. El índice de Charlson medio entre los supervivientes, así como el porcentaje que tenía un índice de Charlson superior a 2 puntos fue significativamente menor que los de los fallecidos (Tabla 17).

En el 54,5% (18 pacientes) de los casos el origen de la bacteriemia por *E. coli* era nosocomial, el 27,3% comunitaria, y los restantes 6 casos relacionados con la asistencia sanitaria, sin que existieran diferencias con el origen de los supervivientes.

Respecto al foco de la bacteriemia, en el 45,5% de los casos era abdominal, el 21,1% urinario, y en los 11 casos restantes era desconocido. Se puso de manifiesto que el foco urinario era significativamente más frecuente entre los supervivientes que entre los fallecidos (Tabla 18).

Podemos apreciar todos estos datos en comparación con los correspondientes de los pacientes no fallecidos en las tablas 17 y 18. Destaca la mayor comorbilidad de los fallecidos respecto a los supervivientes, así como la mayor presencia de cáncer y tratamientos inmunosupresores. Las diferencias en la escala de McCabe Jackson así como en el índice de Pitt confieren validez interna a los datos por la propia definición de ambas escalas.

La repercusión sistémica de la bacteriemia en estos pacientes fue: 45,5% (15) no tenían criterios de sepsis, 30,3% (10) tenían criterios de sepsis grave, 12,1% (4) de shock séptico, y los 4 pacientes restantes de sepsis leve. Podemos ver gráficamente la distribución de la respuesta inflamatoria a la bacteriemia en la Figura 32, las diferencias que se aprecian no fueron estadísticamente significativas.

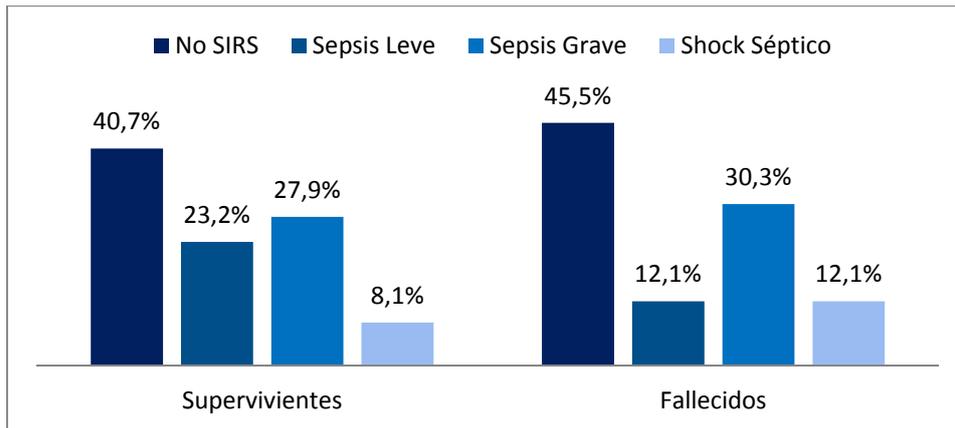


Figura 32. Distribucion de la respuesta inflamatoria a la bacteriemia en funcion de evolucion del episodio

El índice de Pitt medio era de 1,9 (SD 2,4). El 39,3% de los fallecidos tenía un índice de Pitt por encima de 1. Este dato sí resultó estadísticamente diferente respecto a los pacientes no fallecidos, tanto en su valor medio como en el porcentaje de pacientes con un índice de Pitt superior a 1, como se aprecia en la Tabla 18.

Tabla 17. Características clínicas de fallecidos y supervivientes

	Supervivientes n=86	Fallecidos n=33	p
Sexo varón, n (%)	37 (62.7)	22 (37.3)	0.025
Sexo mujer, (%)	49 (81.7)	11 (18.3)	NS
Edad, mediana (SD)	71.78 (16.38)	68.03 (17.07)	NS
Edad >65 años, n (%)	64 (73.6)	18 (56.3)	NS
Índice de Charlson, media (SD)	2.62 (2.18)	4.06 (1.9)	0.001
Índice de Charlson >2, n (%)	40 (46)	25 (75.8)	0.004
Diabetes mellitus, n (%)	16 (18.4)	8 (24.2)	NS
Cáncer, n (%)	30 (34.5)	18 (54.5)	0.060
Neo Hematológica, n (%)	7 (8)	5 (15.2)	NS
Inmunodepresión global, n (%)	19 (21.8)	15 (45.5)	0.013
VIH, n (%)	1 (1.1)	1 (3)	NS
Corticoides, n (%)	8 (9.25)	3 (9.1)	NS
Otros fármacos, n (%)	3 (3.4)	4 (12.1)	0.090
Biológicos, n (%)	1 (1.1)	0	NS
Quimioterapia, n (%)	9 (10.3)	11 (33.3)	0.005
Servicio de Ingreso			NS
Médico, n (%)	54 (64.3)	23 (69.7)	
Quirúrgico, n (%)	22 (26.2)	4 (12.1)	
Unidades Críticas, n (%)	8 (9.5)	6 (18.2)	
McCabe Jackson			0.001
No fatal, n (%)	42 (48.8)	5 (15.2)	
Rápidamente fatal, n (%)	35 (40.7)	18 (54.5)	
Inmediatamente fatal, n (%)	9 (10.5)	10 (30.3)	
Estancia Hospitalaria, media (SD)	22.74 (26.56)	33.09 (29.64)	NS
Días estancia hasta la bacteriemia, media (SD)	8.09 (15.06)	12.5 (15.03)	NS

Tabla 18. Características del episodio bacteriémico de supervivientes y fallecidos

	Supervivientes n=86	Fallecidos n=33	P
Índice de Pitt, media (SD)	0.84 (1.13)	1.9 (2.44)	0.02
Índice de Pitt >1, n (%)	16 (19.5)	11 (39.3)	0.044
Origen de bacteriemia			NS
Nosocomial, n (%)	35 (40,2)	18 (54.4)	
Comunitaria, n (%)	44 (50.6)	9 (27.3)	
Rel cuidados sanitarios, n (%)	8 (9.2)	6 (18.2)	
Fuente de la bacteriemia			0.033
Urinaria, n (%)	33 (37.9)	7 (21.2)	
Abdominal, n (%)	42 (48.3)	15 (45.5)	
Otros, n (%)	12 (13.8)	11 (33.3)	
Tratamiento adecuado, n (%)*	81 (100)	30 (100)	NS
Horas desde Bacteriemia hasta inicio tto, media (SD)	8.09 (15.06)	12.51 (15.03)	NS

De los 33 pacientes fallecidos, 3 no recibieron tratamiento antimicrobiano, en el resto de los casos, el tratamiento antimicrobiano se administró y fue adecuado a las sensibilidades in vitro del aislamiento microbiológico. Los antimicrobianos utilizados fueron: carbapenemes en 15 pacientes, betalactámicos asociados a inhibidores de betalactamasas en 14 pacientes y colistimetato de sodio en 1 paciente. No hubo diferencias significativas en cuanto a la adecuación del tratamiento antibiótico, ni mayor demora en su administración entre los fallecidos y los supervivientes (Tabla 18).

Para la correcta evaluación del pronóstico de la bacteriemia, hay que considerar inicialmente el pronóstico previo del paciente independiente del episodio de bacteriemia. Para ello utilizamos la escala de McCabe-Jackson, que clasifica a los pacientes en función de su pronóstico en no fatal, últimamente fatal y rápidamente fatal. Así encontramos de forma global que 47 pacientes (39,5%) tenían un pronóstico no fatal, 53 (44,5%) últimamente fatal y 19 (16%) rápidamente fatal.

Si realizamos este mismo análisis entre los fallecidos encontramos que de los 32, 5 (15,2%) tenían un McCabe-Jackson no fatal, 18 (54,5%) ultimamente fatal, y 10 (30,3%) rápidamente fatal (Figura 33), que comparado con la distribución de las categorías de la escala de McCabe-Jackson resultó estadísticamente significativa la diferencia con un predominio de la categoría no fatal entre los supervivientes en comparación con los no supervivientes (39,5% vs 15,2%, p 0.001) y un predominio de

la categoría rápidamente fatal entre los no supervivientes comparados con los supervivientes (30,3% vs 16%, 0.001).

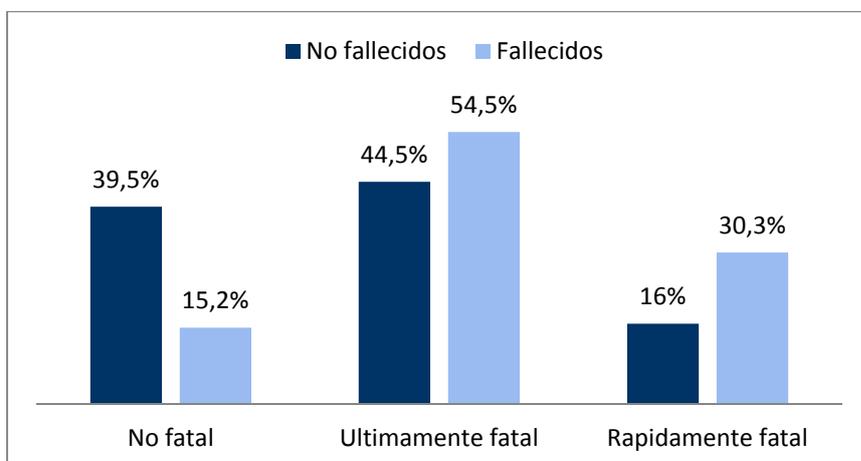


Figura 33. Distribución de la escala de McCabe-Jackson de acuerdo a supervivencia.

4.9. Características generales de los aislamientos de *E. coli*

En el estudio se recogieron 120 cepas distintas correspondientes a otros tantos pacientes de muestras de hemocultivos de *E. coli*. Se llevó a cabo según descripción previa, el análisis de sensibilidad a antimicrobianos y de biología molecular que a continuación pasaré a detallar.

4.9.1. Estudio de sensibilidad in vitro a antibióticos y de presencia de betalactamasas.

Se estudiaron la sensibilidad a antimicrobianos de todas las cepas de *E. coli* aisladas e incluidas en el estudio según estándares del laboratorio de microbiología detallados en apartado 3.5.10.

Los antimicrobianos más activos fueron Imipenem (100% de cepas sensibles) y Amikacina (98.3% de cepas sensibles), seguidos de Ceftazidina (96.6%), Cefotaxima (95.8%), Cefepime (95.8%) y Piperacilina/Tazobactam (90.7%). Hasta un 87.3% de las cepas mostraron sensibilidad a Amoxicilina /Clavulánico. El 64% de las cepas era resistente a Amoxicilina y/o Ampicilina, el 38% a Ácido Nalidíxico y el 27,1% a Ciprofloxacino. Estas tasas de resistencia/sensibilidad a antimicrobianos no difirieron entre los casos graves y leves de forma estadísticamente significativa. (Tabla 19).

Tabla 19. Estudio de Sensibilidad a antimicrobianos de las cepas de *E. coli* aisladas en hemocultivos.

	Total cepas n=120	Casos Leves n=74	Casos Graves n=45
Amoxicilina /Ampicilina, n (%)	75 (64)	45 (60.8)	30 (69.8)
Amoxicilina/Clavulánico, n (%)	13 (12.7)	10 (13.5)	3 (6.8)
Piperacilina/Tazobactam, n (%)	11 (9.3)	8 (10.8)	3 (6.8)
Cefoxitina, n (%)	6 (5.1)	5 (6.8)	1 (2.3)
Cefuroxima, n (%)	12 (10.2)	9 (12.2)	3 (6.8)
Cefotaxima, n (%)	5 (4.2)	3 (4.1)	2 (4.5)
Ceftazidima, n (%)	4 (3.4)	2 (2.5)	2 (4.5)
Cefepime, n (%)	5 (4.2)	3 (4.1)	2 (4.5)
Imipenem, n (%)	0	0	0
Ácido Nalidixico, n (%)	45 (38)	28 (37.8)	17 (38.6)
Ciprofloxacino, n (%)	32 (27.1)	20 (27)	12 (27.3)
Amikacina, n (%)	2 (1.7)	2(2.7)	0
Producción de BLEE, n (%)	6 (5.1)	3 (4.1)	3 (6.7)

Los datos están expresados como numero de cepas (%) resistentes a cada antimicrobiano. Sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos

En la Tabla 20 se muestra la comparación de la resistencia a antimicrobianos en función del lugar de adquisición de la infección. Aunque globalmente la infección de origen nosocomial mostró una tendencia mayor a estar producida por cepas resistentes a antimicrobianos, esta diferencia sólo fue significativa para el ácido nalidíxico, con un exceso de resistencia en el grupo de adquisición nosocomial (57.8% vs 28.9% en origen comunitario y 13.3% en origen relacionado con cuidados sanitarios, $p=0.02$).

Tabla 20. Número de cepas resistentes a antimicrobianos en función de lugar de adquisición de la infección.

	Comunitario n= 53	Relacionado con cuidados n= 14	Nosocomial n= 53
Amoxicilina /Ampicilina, n (%)	28 (37.3)	9 (12)	38 (50.7)
Amoxicilina/Clavulánico, n (%)	4 (30.8)	0	9 (69.2)
Piperacilina/Tazobactam, n (%)	5 (45.5)	0	6 (54.5)
Cefoxitina, n (%)	2 (33.3)	0	4 (66.6)
Cefuroxima, n (%)	2 (16.7)	1 (8.3)	9 (75)
Cefotaxima, n (%)	1 (20)	1 (20)	3 (60)
Ceftazidima, n (%)	1 (25)	0	3 (75)
Cefepime, n (%)	1 (20)	1 (20)	3 (60)
Imipenem, n (%)	0	0	0
Ácido Nalidíxico , n (%) *	13 (28.9)	6 (13.3)	26 (57.8)
Ciprofloxacino, n (%)	10 (31.3)	5 (15.6)	17 (33.3)
Amikacina, n (%)	0	0	2 (100)
Producción de BLEE, n (%)	1 (16.7)	1(16.7)	4 (66.7)

* p 0.02 para Acido Nalidixico en origen nosocomial, respecto los otros grupos. No diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para el resto de variables. Porcentajes relativos al total de cepas resistentes a cada antimicrobiano.

Tan solo 6 aislados (5.1%) mostraron producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), 4 de ellos procedentes de casos de infección nosocomial, 1 relacionado con los cuidados sanitarios y otro comunitario, sin que estas diferencias fueran estadísticamente significativas.

Asimismo, y mediante PCR se analizó la presencia de otras familias de betalactamasas, TEM, CTX-M y VIM, encontrando 67 (55.8%) cepas portadoras de TEM, 30 (25%) de CTX-M y 1 (0.8%) cepa con VIM. Además, en el contexto de un brote hospitalario por la carbapenemasa OXA 48 [164,165] se detectó una cepa portadora de esta carbapenemasa asociada a producción de BLEE.

La distribución de las familias de betalactamasas analizadas (TEM, CTX-M y VIM) se recoge en la Tabla 21, en función del grupo filogenético y las características clínicas de respuesta sistémica a la bacteriemia (casos leves y graves), el origen (nosocomial, comunitario o relacionado con la asistencia sanitaria) y el foco de la misma (urinario, intraabdominal u otros), así como en función de la evolución final del episodio (supervivencia o fallecimiento). La única diferencia estadísticamente significativa entre todos ellos, fue la mayor presencia de CTX-M en el grupo filogenético B2 respecto a los grupos A, B1 y D ($p < 0.001$).

Tabla 21. Distribución de los genes de betalactamasas en función de otros determinantes clínicos o microbiológicos

	TEM	CTX-M	VIM
Global	67 (55.8)	30 (25)	1 (0.8)
Grupo filogenético			
A	25 (69.4)	2 (5.6)	0
B1	7 (53.4)	4 (30.8)	0
B2	26 (52)	23 (46) *	1 (2)
D	9 (42.9)	1 (4.8)	0
Gravedad de la sepsis			
Casos leves	37 (49.3)	20 (26.7)	0
Casos graves	30 (66.7)	10 (22.2)	1 (2.2)
Estado inmune			
Inmunocompetentes	46 (53.5)	23 (26.7)	0
Inmunodeprimidos	21 (61.8)	7 (20.6)	1 (2.9)
Foco de la bacteriemia			
Urinario	23 (57.5)	10 (25)	0
Intraabdominal	31 (54.4)	16 (28.1)	1 (1.8)
Otros	13 (56.5)	4 (17.4)	0
Evolución final			
Supervivientes	47 (54)	19 (21.8)	0
Fallecidos	20 (60.6)	11 (33.3)	1 (3)
Origen de la bacteriemia			
Comunitario	25 (47.2)	14 (26.4)	0
Rel asistencia sanitaria	7 (50)	2 (14.3)	0
Nosocomial	7 (50)	2 (14.3)	0

* $p < 0.001$ para CTMX en grupo filogenético B2, respecto a A, B1 y D. No diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para el resto de variables.

4.9.2. Distribución de los distintos genes analizados

Se determinaron 25 genes relacionados con virulencia de *E. coli*, y 3 familias de betalactamasas. Los datos relativos a las betalactamasas VIM, TEM y CTX-M determinadas se encuentran recogidas en el apartado anterior, conjuntamente con los datos relativos a la sensibilidad a antimicrobianos. Las funciones y nombres de dichos genes se encuentran recogidos en la Tabla 4.

Pasaremos a continuación a describir la distribución de dichos genes y su relación con los distintos parámetros clínicos analizados.

4.9.2.1. Distribución global de los genes de virulencia de *E. coli*.

De forma global encontramos que los genes más frecuentemente hallados en nuestra colección de *E. coli* procedente de bacteriemias fueron: *fimH*, *fyuA* y *ompT*, presentes en 115 (95.8% de los aislados), 91 (75.8%) y 90 (75%) cepas respectivamente. Al contrario, los genes menos representados en la colección fueron: *papG allele I* que no se identificó en ninguna cepa, y *afaB/C* que se aisló solo en 3 cepas (2.5% de los aislados). La frecuencia de cada gen se encuentra recogida en la Tabla 22.

Nueve pacientes (7.5%) tenían infección por una cepa de *E. coli* que expresaba al menos 15 genes de virulencia, y en el otro extremo 25 (20%) cepas expresaban menos de 5 genes de virulencia.

Si expresamos esto en forma de score de virulencia (número de genes de virulencia para cada aislado), encontramos que el score medio fue de 9.3 (rango 0 a 18).

Tabla 22. Distribución de genes de virulencia en todos los aislados de *E. coli* del estudio

Genes de Virulencia	Todos los aislados n=120
Adhesinas	
<i>pap C</i> , n(%)	58 (48.3)
<i>pap G allele I</i> , n(%)	0
<i>pap G allele II</i> , n(%)	36(30)
<i>pap G allele III</i> , n(%)	12 (10)
<i>afaB/C</i> , n(%)	3 (2.5)
<i>fimH</i> , n(%)	115(95.8)
<i>lha</i> , n(%)	42 (35)
<i>sfa/foc DE</i> , n(%)	24(20)
Toxinas	
<i>cdtB</i> , n(%)	7 (5.8)
<i>cnf1</i> , n(%)	17 (14.2)
<i>hlyA</i> , n(%)	28 (23.3)
<i>Sat</i> , n(%)	32 (26.7)
<i>Usp</i> , n(%)	69 (57.5)
Protectinas	
<i>kps MTII</i> , n(%)	66 (55)
<i>ompT</i> , n(%)	90 (75)
Relacionados con la adquisición del hierro	
<i>iroN</i> , n(%)	61 (50.8)
<i>fyuA</i> , n(%)	91 (75.8)
<i>iutA</i> , n(%)	83 (69.2)
<i>iucD</i> , n(%)	77 (64.2)
<i>ireA</i> , n(%)	23 (19.2)
Miscelanea	
<i>malX</i> , n(%)	68 (56.7)
<i>Svg</i> , n(%)	12 (10)
<i>ibeA</i> , n(%)	16 (13.3)
<i>tratT</i> , n(%)	76 (63.3)
<i>cvaC</i> , n(%)	13 (36.1)

4.9.2.2. Distribución de los genes de virulencia de *E. coli* según los grupos filogenéticos: A, B1, B2, D.

El grupo filogenético más frecuente en nuestra muestra fue el B2, con 50 (41.6%) aislados, los siguientes grupos filogenéticos en orden de frecuencia fueron el A (36 aislados, 30%), D (21 aislados, 17.5%) y el B1 (13 aislados, 10.8%).

Tabla 23. Distribución de genes de virulencia en función del grupo filogenético

Genes de Virulencia	A n= 36	B1 n= 13	B2 n= 50	D n= 21	P
Adhesinas					
<i>pap C</i> , n(%)	10 (27.8)	4 (30.8)	32 (64)	12 (57.1)	0.004
<i>pap G allele I</i> , n(%)	0	0	0	0	-
<i>pap G allele II</i> , n(%)	4 (11.1)	2 (15.4)	23 (46)	7 (33.3)	0.003
<i>pap G allele III</i> , n(%)	2 (5.6)	0	10 (20)	0	0.018
<i>afaB/C</i> , n(%)	0	0	2 (4)	1 (4.8)	-
<i>fimH</i> , n(%)	32 (88.9)	13 (100)	50 (100)	21 (95.2)	-
<i>lha</i> , n(%)	7 (19.4)	4 (30.8)	19 (38)	12 (57.1)	-
<i>sfa/foc DE</i> , n(%)	2 (5,6)	2 (15,4)	20 (40)	0	<0.0001
Toxinas					
<i>cdtB</i> , n(%)	0	0	5 (10)	2 (9.5)	-
<i>cnf1</i> , n(%)	0	0	17 (34)	0	<0.0001
<i>hlyA</i> , n(%)	4 (11.1)	2 (15.4)	20 (40)	2 (9.5)	0.004
<i>Sat</i> , n(%)	2 (5.6)	4 (30.8)	16 (32)	10 (47.6)	0.003
<i>Usp</i> , n(%)	5 (13.9)	6 (46.2)	50 (100)	8 (38.1)	<0.0001
Protectinas					
<i>kps MTII</i> , n(%)	8 (22.2)	6 (4.2)	38 (76)	14 (66.7)	<0.0001
<i>ompT</i> , n(%)	17 (47.2)	8 (61.5)	50 (100)	15 (71.4)	<0.0001
Iron-related					
<i>iroN</i> , n(%)	18 (80)	10 (76.9)	31 (62)	2 (9.5)	<0.0001
<i>fyuA</i> , n(%)	19 (52.8)	8(61.5)	50 (100)	14 (66.7)	<0.0001
<i>iutA</i> , n(%)	23 (63.9)	10 (76.9)	36 (72)	14 (66.7)	-
<i>iucD</i> , n(%)	21 (58.3)	10 (76.9)	33 (66)	13 (61.9)	-
<i>ireA</i> , n(%)	3 (8.3)	4 (30.8)	13 (26)	3 (14.3)	-
Miscelanea					
<i>malX</i> , n(%)	6 (16.7)	6 (46.2)	49 (98)	7 (33.3)	<0.0001
<i>Svg</i> , n(%)	1 (2.8)	1 (7.7)	9 (18)	1 (4.8)	-
<i>ibeA</i> , n(%)	1 (2.8)	0	11 (22)	4 (19)	-
<i>tratT</i> , n(%)	20 (55.6)	10 (76.9)	36 (72)	10 (47.6)	-
<i>cvaC</i> , n(%)	13 (36.1)	2 (15.4)	10 (20)	0	-
Score de virulencia, media (SD)	6,2 (3,6)	8,5 (4,2)	12,3 (2,9)	7,7 (2,7)	<0.001

Como se aprecia en la Tabla 23, el grupo filogenético B2 era el que más genes de virulencia expresaba de forma estadísticamente significativa para casi todos ellos. El score de virulencia para cada uno de grupos fue: 12.3 (SD 2.9), 8.5 (SD 4.2), 7.7 (SD 2.7) y 6.2 (SD 3.6) para B2, B1, D y A respectivamente, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$).

Ninguno de los grupos filogenéticos se asociaron a variable clínica o de pronóstico del episodio de bacteriemia como se puede apreciar en la Tabla 24.

Tabla 24. Distribución de los grupos filogenéticos en función de variables clínicas

	A n= 36	B1 n= 13	B2 n= 50	D n= 21
Gravedad del episodio				
Sepsis leve	20	10	32	13
Sepsis grave	16	3	18	8
Evolución final del episodio				
Fallecido	10	3	13	7
Superviviente	26	10	10	10
Foco de infección				
Abdominal	17	5	26	9
Urinario	10	6	14	10
Otros				
Origen de infección				
Comunitario	9	5	29	10
Rel. asistencia sanitaria	4	2	5	3
Nosocomial	23	6	16	8

Sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos

4.9.2.3. Distribución de los genes de virulencia de *E. coli* en función del grado de severidad de la sepsis: casos leves y casos graves.

La distribución de los 25 genes de virulencia analizados en función de la respuesta inflamatoria a la sepsis, recategorizada en casos leves y graves se aprecia en la Tabla 25. Tan solo la expresión de la toxina *cnf* se mostró más frecuente de forma estadísticamente significativa en los casos graves que el los leves (24.4% vs 8%, $p=0.016$).

El score de virulencia para cada uno de grupos fue: 8.99 (SD 4.1) para casos leves y 9.8 (SD 4.3), sin que estas diferencias fueran estadísticamente significativas.

Tabla 25. Distribución de los genes de virulencia en función de la severidad de la sepsis

Genes de Virulencia	Casos leves n= 74	Casos graves n= 45	P
Adhesinas			
<i>pap C</i> , n(%)	37 (49.3)	21 (46.7)	-
<i>pap G allele I</i> , n(%)	0	0	-
<i>pap G allele II</i> , n(%)	23 (30.7)	13 (28.9)	-
<i>pap G allele III</i> , n(%)	4 (5.3)	8 (17.8)	-
<i>afaB/C</i> , n(%)	3 (4)	0	-
<i>fimH</i> , n(%)	73 (97.3)	42 (93.3)	-
<i>lha</i> , n(%)	29 (38.7)	13 (28.9)	-
<i>sfa/foc DE</i> , n(%)	11 (14.7)	13 (28.9)	-
Toxinas			
<i>cdtB</i> , n(%)	3 (4)	4 (8.9)	-
<i>cnf1</i> , n(%)	6 (8)	11 (24.4)	0.016
<i>hlyA</i> , n(%)	15(20)	13 (28.9)	-
<i>Sat</i> , n(%)	22 (29.3)	10 (22.2)	-
<i>Usp</i> , n(%)	44 (58.7)	25 (55.6)	-
Protectinas			
<i>kps MTII</i> , n(%)	39 (52)	27 (60)	-
<i>ompT</i> , n(%)	35 (70.7)	37 (82.2)	-
Relacionados con metabolism del hierro			
<i>iroN</i> , n(%)	34 (45.3)	27 (60)	-
<i>fyuA</i> , n(%)	55 (73.3)	36 (80)	-
<i>iutA</i> , n(%)	51 (68)	32 (71.7)	-
<i>iucD</i> , n(%)	48 (64)	29 (64.4)	-
<i>ireA</i> , n(%)	17 (27.2)	6 (13.3)	-
Miscelanea			
<i>malX</i> , n(%)	43 (57.3)	25 (55.6)	-
<i>Svg</i> , n(%)	8 (10.7)	4 (8.9)	-
<i>ibeA</i> , n(%)	10 (13.3)	6 (13.3)	-
<i>tratT</i> , n(%)	47 (62.7)	29 (64.4)	-
<i>cvaC</i> , n(%)	37 (49.3)	21 (46.7)	-

4.9.2.4. Distribucion de los genes de virulencia de *E. coli* en función de la evolución final de la bacteriemia

Se analizó asimismo la expresión de genes de virulencia de *E. coli* en función de la evolución de la bacteriemia: fallecidos y supervivientes

En la Tabla 26 podemos apreciar las frecuencias de los diferentes genes analizados, en ambos grupos de pacientes. Ninguno de todos ellos mostró diferencias entre los grupos.

El score de virulencia fue: 9.4 (SD 4.3) para los supervivientes y 8.9 (SD 3.9) para los fallecidos, diferencias no significativas.

Tabla 26. Distribución de los genes de virulencia en función de la evolución final de la bacteriemia

Genes de Virulencia	Supervivientes n= 87	Fallecidos n= 33
Adhesinas		
<i>pap C</i> , n(%)	47 (54)	11 (33.3)
<i>pap G allele I</i> , n(%)	0	0
<i>pap G allele II</i> , n(%)	29 (33.3)	7 (21.2)
<i>pap G allele III</i> , n(%)	10 (11.5)	2 (6.1)
<i>afaB/C</i> , n(%)	2 (2.3)	1 (3)
<i>fimH</i> , n(%)	84 (96.6)	31 (93.9)
<i>lha</i> , n(%)	32 (36.8)	10 (30.3)
<i>sfa/foc DE</i> , n(%)	18 (20.7)	6 (18.2)
Toxinas		
<i>cdtB</i> , n(%)	5 (5.7)	2 (6.1)
<i>cnf1</i> , n(%)	13 (14.9)	4 (12.1)
<i>hlyA</i> , n(%)	24 (27.6)	4 (12.1)
<i>Sat</i> , n(%)	25 (28.7)	7 (21.2)
<i>Usp</i> , n(%)	51 (58.6)	18 (54.5)
Protectinas		
<i>kps MTII</i> , n(%)	47 (54)	19 (57.6)
<i>ompT</i> , n(%)	64 (73.6)	26 (78.8)
Relacionados con metabolism del hierro		
<i>iroN</i> , n(%)	45 (51.7)	16 (48.5)
<i>fyuA</i> , n(%)	67 (77)	24 (72.7)
<i>iutA</i> , n(%)	58 (66.7)	25 (75.8)
<i>iucD</i> , n(%)	55 (63.2)	22 (66.7)
<i>ireA</i> , n(%)	16 (18.4)	7 (21.2)
Miscelanea		
<i>malX</i> , n(%)	51 (58.6)	47 (51.6)
<i>Svg</i> , n(%)	8 (9.2)	4 (12.1)
<i>ibeA</i> , n(%)	10 (11.5)	6 (18.2)
<i>tratT</i> , n(%)	57 (65.5)	14 (57.6)
<i>cvaC</i> , n(%)	47 (54)	11 (33.3)

Sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos

4.9.2.5. Distribución de los genes de virulencia de *E. coli* en función del estado inmune.

La distribución de los 25 genes de virulencia analizados en función del estado inmune del paciente, categorizado en inmunocompetente o inmunocomprometido se puede apreciar en la Tabla 27. Tan solo la expresión del gen *iucD* se mostró más frecuente entre la población inmunocomprometida (79.4% vs 58.1%, $p=0.035$).

El score de virulencia para cada uno de grupos fue: 9.3 (SD 4.2) para los pacientes inmunocompetentes y 9.2 (SD 4.2), sin que estas diferencias fueran estadísticamente significativas.

Tabla 27. Distribución de los genes de virulencia en función del estado inmune

Genes de Virulencia	Inmunocompetente n= 86	Inmunocomprometido n= 34
Adhesinas		
<i>pap C</i>	41 (47.7)	17 (50)
<i>pap G allele I</i>	0	0
<i>pap G allele II</i>	28 (32.6)	8 (23.5)
<i>pap G allele III</i>	8 (9.3)	4 (11.8)
<i>afaB/C</i>	1 (1.2)	2 (5.9)
<i>fimH</i>	82 (95.3)	33 (97.1)
<i>lha</i>	29 (33.7)	13 (38.2)
<i>sfa/foc DE</i>	18 (20.9)	6 (17.6)
Toxinas		
<i>cdtB</i>	5 (5.8)	2 (5.9)
<i>cnf1</i>	12 (14)	5 (14.7)
<i>hlyA</i>	22 (25.6)	6 (17.6)
<i>Sat</i>	23 (26.7)	9 (26.5)
<i>Usp</i>	53 (61.6)	16 (47.1)
Protectinas		
<i>kps MTII</i>	51 (59.3)	15 (44.1)
<i>ompT</i>	68 (79.1)	22 (64.7)
Relacionados con metabolism del hierro		
<i>iroN</i>	44 (51.2)	17 (50)
<i>fyuA</i>	67 (77.9)	24 (70.6)
<i>iutA</i>	56 (65.1)	27 (79.4)
<i>iucD</i> *	50 (58.1)	27 (79.4)
<i>ireA</i>	17 (18.9)	6 (17.6)
Miscelanea		
<i>malX</i>	52 (60.5)	16 (47)
<i>svg</i>	8 (9.3)	4 (11.4)
<i>ibeA</i>	12 (14)	4 (11.8)
<i>tratT</i>	52 (60.5)	24 (70.6)
<i>cvaC</i>	18 (20.9)	7 (20.6)

* $p<0.035$ para la presencia de *iucD*. No diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para el resto de variables.

4.9.2.6. Distribución de los genes de virulencia de *E. coli* en función de foco de la bacteriemia: urinario, intraabdominal u otros

La distribución de los 25 genes de virulencia analizados en función del foco de la bacteriemia se puede apreciar en la Tabla 28. Tan solo la expresión del gen *iutA* se mostró más frecuente entre la población con infección procedente de foco distinto del urinario e intraabdominal de forma estadísticamente significativa.

El score de virulencia para cada uno de grupos fue: 9.3 (SD 3.9) para el foco urinario, 9 (SD 4.5) para el foco intraabdominal y 9.8 (SD 4.1) para otros focos, sin que estas diferencias fueran estadísticamente significativas.

Tabla 28. Distribución de los genes de virulencia en función del foco de la bacteriemia.

Genes de Virulencia	Urinario n= 40	Intraabdominal n= 57	Otros n= 23
Adhesinas			
<i>pap C</i>	24 (60)	22 (38.6)	13 (52.2)
<i>pap G allele I</i>	0	0	0
<i>pap G allele II</i>	16 (40)	16 (28.1)	4 (17.4)
<i>pap G allele III</i>	2 (5)	5 (8.8)	5 (21.7)
<i>afaB/C</i>	0	2 (3.5)	1 (4.3)
<i>fimH</i>	38 (95)	56 (98.2)	21 (91.3)
<i>iha</i>	18 (45)	19 (33.3)	5 (21.7)
<i>sfa/foc DE</i>	7 (17.5)	12 (21.1)	5 (21.7)
Toxinas			
<i>cdtB</i>	0	4 (7)	3 (13)
<i>cnf1</i>	4 (10)	10 (17.5)	3 (13)
<i>hlyA</i>	9 (22.5)	13 (22.8)	6 (26.1)
<i>sat</i>	14 (35)	13 (22.8)	5 (21.7)
<i>Usp</i>	23 (57.5)	33(57.9)	13 (56.5)
Protectinas			
<i>kps MTII</i>	24 (60)	29 (50.9)	13 (56.5)
<i>ompT</i>	30 (75)	41 (71.9)	19 (82.6)
Relacionados con metabolism del hierro			
<i>iroN</i>	18 (45)	30 (52.6)	13 (56.5)
<i>fyuA</i>	31 (77.5)	43 (75.4)	17 (73.9)
<i>iutA</i>	31 (77.5)	32 (56)	20 (87)
<i>iucD</i>	27 (67.5)	32 (56.1)	18 (78.3)
<i>ireA</i>	11 (27.5)	10 (17.5)	2 (8.7)
Miscelanea			
<i>malX</i>	22 (55)	33 (57.9)	13 (56.9)
<i>Svg</i>	3 (7.5)	6 (10.5)	3 (13)
<i>ibeA</i>	2 (5)	10 (17.5)	4 (17.4)
<i>tratT</i>	22 (55)	37 (64.9)	17 (73.9)
<i>cvaC</i>	7 (17.55)	10 (17.5)	8 (34.8)

* $p < 0.01$ para la presencia de *iutA*. No diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para el resto de variables.

4.9.2.7. Distribución de los genes de virulencia de *E. coli* en función de origen de la bacteriemia: comunitaria, relacionada con cuidados sanitarios o nosocomial

La distribución de los 25 genes de virulencia en función del origen se puede ver en la Tabla 29. Se encontraron varias diferencias estadísticamente significativas, así *papC* fue más frecuente entre los pacientes con adquisición nosocomial, y *usp*, *kps MTII* y *malX* entre los pacientes con adquisición comunitaria.

El score de virulencia para cada uno de grupos fue: 9.5 (SD 34.1) para el origen comunitario, 10 (SD 3.9) para el origen relacionado con la asistencia sanitaria y 8.9 (SD 4.4) para el origen nosocomial, sin que estas diferencias fueran estadísticamente significativas.

Tabla 29. Distribución de los genes de virulencia en función de origen de la bacteriemia.

Genes de Virulencia	Comunitario n= 53	Relacionado con asistencia sanitaria n= 14	Nosocomial n= 53	p
Adhesinas				
<i>pap C</i>	24 (45.3)	11 (78.6)	23 (43.4)	0.054
<i>pap G allele I</i>	0	0	0	NS
<i>pap G allele II</i>	18 (34)	7 (50)	11 (20.8)	NS
<i>pap G allele III</i>	4 (7.5)	2 (14.3)	6 (11.3)	NS
<i>afaB/C</i>	1 (1.9)	0	2 (3.8)	NS
<i>fimH</i>	52 (98.1)	13 (92.9)	50 (94.3)	NS
<i>lha</i>	21 (39.6)	4 (28.65)	17 (32.1)	NS
<i>sfa/foc DE</i>	13 (24.5)	3 (21.4)	8 (15.2)	NS
Toxinas				
<i>cdtB</i>	3 (7.5)	1 (7.1)	3 (5.7)	NS
<i>cnf1</i>	7 (13.2)	2 (14.3)	8 (15.1)	NS
<i>hlyA</i>	15 (28.3)	3 (21.4)	10 (18.9)	NS
<i>Sat</i>	16 (30.2)	5 (37.5)	11 (20.8)	NS
<i>Usp</i>	39 (76.6)	7 (50)	23 (43.4)	0.006
Protectinas				
<i>kps MTII</i>	36 (67.9)	6 (42.9)	24 (45.3)	0.040
<i>ompT</i>	45 (84.9)	10 (71.4)	35 (66)	NS
Relacionados con metabolism del hierro				
<i>iroN</i>	24 (45.35)	8 (57.1)	29 (54.7)	NS
<i>fyuA</i>	43 (81.1)	12 (85.7)	36 (67.9)	NS
<i>iutA</i>	33 (62.3)	12 (85.7)	38 (71.7)	NS
<i>iucD</i>	30 (56.6)	11 (78.6)	36 (67.9)	NS
<i>ireA</i>	11 (20.8)	2 (14.3)	10 (18.9)	NS
Miscelanea				
<i>malX</i>	37 (69.8)	8 (57.1)	23 (43.4)	0.023
<i>Svg</i>	5 (9.4)	1 (7.1)	6 (11.3)	NS
<i>ibeA</i>	8 (15.35)	1 (7.1)	7 (13.2)	NS
<i>tratT</i>	28 (52.8)	11 (78.6)	37 (69.8)	NS
<i>cvaC</i>	7 (13.2)	3 (21.4)	15 (28.3)	NS

4.9.3. Diversidad genética de la población

El estudio de la diversidad genética de la colección de *E. coli* incluida se llevó a cabo, según se recoge en el apartado 2.5.11, mediante pirosecuenciación basada en MLST. Con estos análisis obtuvimos los diferentes SAPs (de sus siglas en inglés: SNP allelic profiles, perfil alélico de SNP) que conformaban la población.

Encontramos que existían 50 SAPs distintos, de los cuales 37 aparecían una única vez. Tan solo 6 SPAs aparecían en más de 5 aislados de *E. coli*, representando el 50.8% del total de aislados. Estos 6 SAPs más representados eran, en orden de frecuencia: SAP131 (n=14), SAP73 (n=12), SAP95 (n=10), SAP23 (n=9), SAP12 (n=8) y SAP10 (n=8).

En la Figura 34 podemos apreciar esta diversidad, expresada en número de aislados por cada SAP. La numeración de los mismos es la tomada de la base de datos pública de MLST (University College Cork, <http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli>). Los seis perfiles etiquetados como Hs no tienen correspondencia en dicha base de datos.

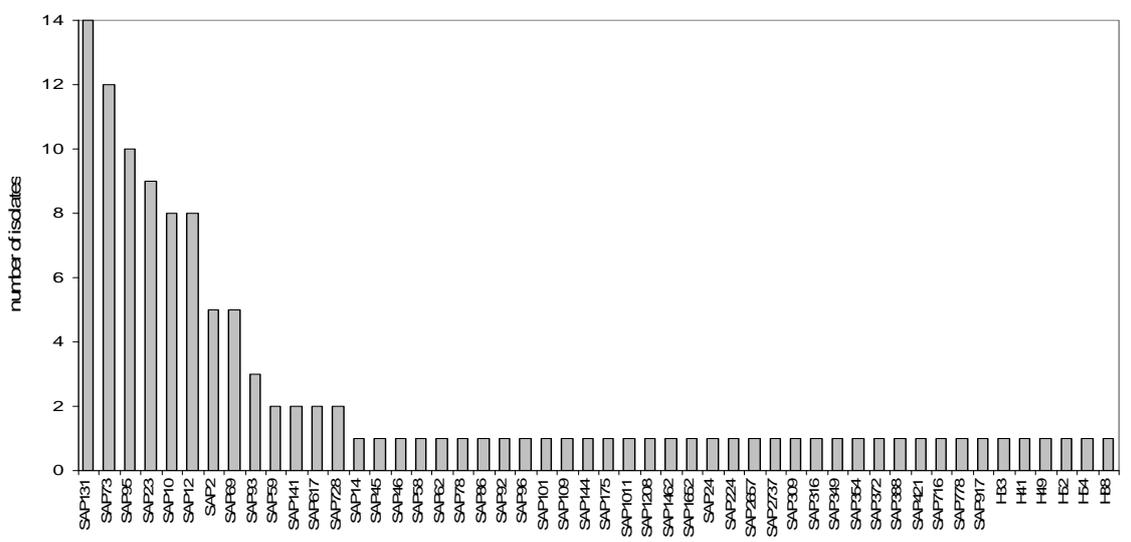


Figura 34. Numero de aislados de *E. coli* por cada SAP.

Cuando estudiamos la diversidad genética de nuestras cepas de *E. coli* en términos de los genes de virulencia analizados por PCR, encontramos que el total de 120 aislados microbiológicos presentaban 108 perfiles diferentes de genes de virulencia, de los cuales 99 se encontraban únicamente en un aislado, siete aparecían en dos aislados, otro perfil de genes de virulencia aparecía en 4 aislados y otro perfil aparecía en 3 aislados, datos representados en la Figura 35

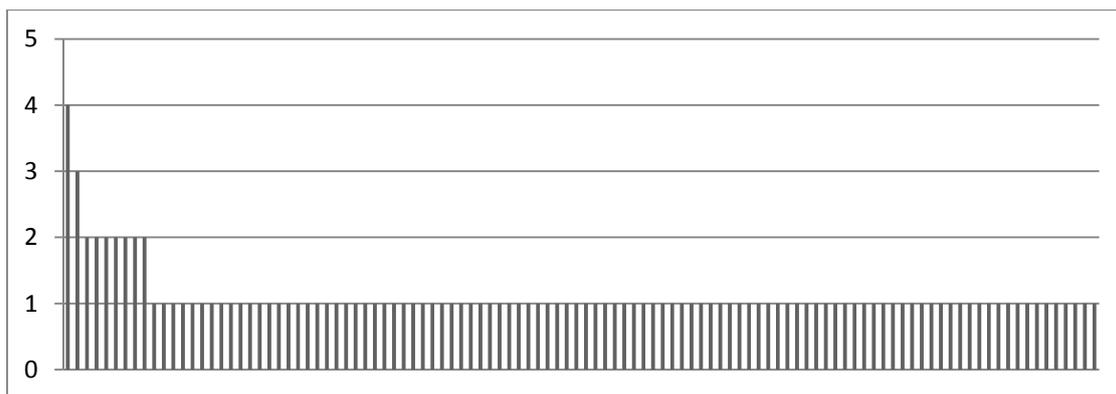


Figura 35. Numero de aislados de *E.coli* con el mismo perfil de genes de virulencia

4.10. Asociación de genes de virulencia de *E. coli* y características clínicas.

El objetivo inicial de este estudio era la búsqueda de algún gen presente en el genoma de *E. coli*, o combinación de ellos, que pudiera ayudar a predecir la gravedad clínica de la bacteriemia, la evolución de la misma, el foco, u otras características clínicas que pudieran ayudar en su manejo de la misma.

En este sentido se realizaron los oportunos análisis estadísticos, inicialmente univariantes y en un segundo paso, si era oportuno, regresión logística por pasos para la búsqueda de factores de riesgo o de protección para la variable a estudio. Ninguno de estos análisis en la búsqueda de genes de virulencia predictores de foco de la bacteriemia, origen de la misma ni estado inmunológico del paciente resultaron positivos. Pasaremos a continuación a detallar los que sí lo fueron.

4.10.1. Genes de virulencia de *E.coli* y gravedad de la sepsis

Con el resultado del análisis univariante de los casos expuesto se vio que debido al escaso numero de pacientes con shock séptico el estudio no tenia potencia estadística suficiente para poder detectar algún factor genético que pudiera ser predictor de gravedad clínica de la sepsis por lo que como se ha comentado previamente en la metodología estadística se reclasificó a los pacientes en casos leves (No SIRS o sepsis leve) y casos graves (Sepsis grave o shock séptico)

Con esa nueva definición de casos de respuesta a la infección se rehizo el análisis univariante tanto de distribución de genes como de características clínicas

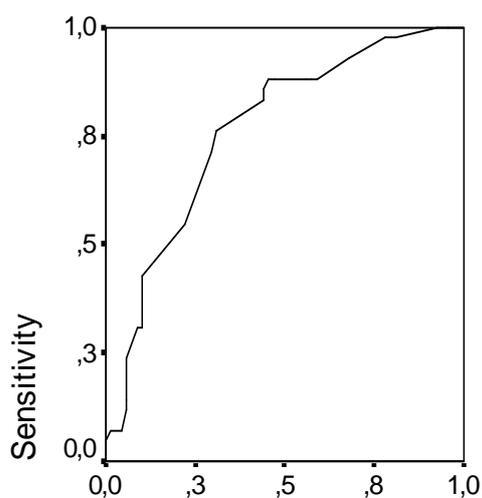
como se ha referido anteriormente. Se realizó posteriormente el análisis de regresión logística por pasos para la búsqueda de factores de riesgo o de protección de caso grave de los pacientes con bacteriemia por *E. coli*. Se incluyeron en el modelo por pasos todas las variables que en el análisis univariante resultaron con una diferencia entre ambos grupos con una significación estadística <0.05 , así como todos los factores de virulencia de *E. coli* analizados, pese a no existir diferencias estadísticamente significativas en el análisis univariante entre los grupos, por considerar este un análisis exploratorio.

En el modelo multivariante por pasos, las variables asociadas de manera independiente con cuadro de sepsis grave fueron el índice de Pitt y la presencia de *cnf* y *bla_{TEM}*.

El modelo multivariante final se muestra en la Tabla 30. El área bajo la curva de Característica Operativa del Receptor (ROC, de sus siglas en inglés) es de 0.853 (IC 95% 0.76-0.936, $p<0.000$), según se observa en la Figura 36.

Tabla 30. Analisis multivariante (regresion logistica por pasos) de factores de riesgo para sepsis grave en pacientes con bacteriemia por *E. coli*

Variable	β	SE (β)	OR	95% CI	P	
Índice de Pitt	0.292	0.140	1.339	1.02	1.76	0.037
Presencia de <i>cnf</i>	1.894	0.670	6.646	1.79	24.71	0.005
Presencia de <i>bla_{TEM}</i>	0.950	0.464	2.590	1.04	6.43	0.04
Constante	-1.528	0.397	0.217			0.000



1 - Specificity

Figura 36. Curva ROC del modelo de regresión logística para predicción de sepsis grave en pacientes con bacteriemia por *E. coli*.

4.10.2. Genes de virulencia de *E.coli* y mortalidad

Se realizó el análisis de regresión logística por pasos para la búsqueda de factores de riesgo o de protección de evento fatal de los pacientes con bacteriemia por *E. coli*. Se incluyeron en el modelo por pasos todas las variables que en el análisis univariante resultaron con una diferencia entre ambos grupos con una significación estadística <0.05 , así como todos los factores de virulencia de *E. coli* analizados, pese a no existir diferencias estadísticamente significativas en el análisis univariante entre los grupos, por considerar este un análisis exploratorio.

En el modelo multivariante por pasos, las variables asociadas de manera independiente con evento fatal fueron el tratamiento quimioterápico activo, el índice McCabe-Jackson, el índice de Pitt y el gen *fyuA*. En el mismo análisis la presencia de alguno de los genes que codifican las fimbrias P (*papC*, *papG alelo I*, *papG alelo II*, *pap alelo III*, nombrado como Genes P fimbria en la tabla) resultó de forma independiente como factor protector de muerte.

El modelo multivariante final se muestra en la Tabla 31. El área bajo la curva de Característica Operativa del Receptor (ROC, de sus siglas en inglés) es de 0.853 (IC 95% 0.76-0.936, $p<0.000$), según se observa en la Figura 37.

Tabla 31. Analisis multivariante (regresion logistica por pasos) de factores de riesgo para Mortalidad en pacientes con bacteriemia por *E. coli*

Variable	β	SE (β)	OR	95% CI	P
Tratamiento QT activo	2.883	0.855	17.871	3.346 - 95.458	0.001
Índice McCabe-Jackson					
No fatal	-	-	-	-	0.013
Rápidamente fatal	2.990	1.497	19.894	1.058 - 374.124	0.046
Últimamente fatal	4.789	1.712	120.153	4.189 - 3446.225	0.005
Índice de Pitt	0.577	0.178	1.781	1.256 - 2.526	0.001
Genes P fimbria	-2.362	0.845	0.094	0.018 - .494	0.005
Gen <i>fyuA</i>	2.085	0.902	8.047	1.374 - 47.125	0.021
Constante	-5.971	1.779	0.003		0.001

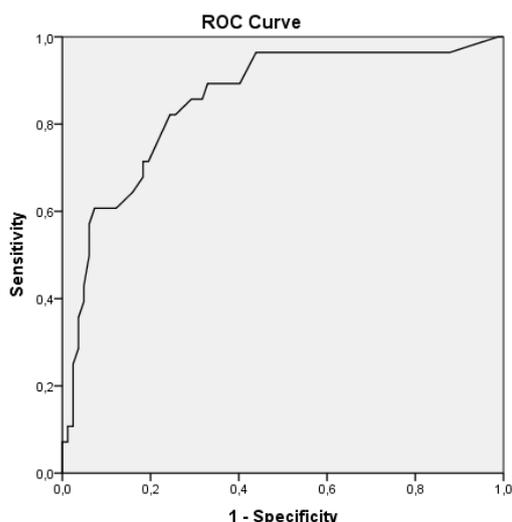


Figura 37. Curva ROC del modelo de regresión logística para predicción de mortalidad en pacientes con bacteriemia por *E. coli*.

Realizado asimismo el análisis de regresión logística sin la inclusión de los factores de virulencia, dado que ninguno de ellos se encontraba en distinta proporción entre supervivientes y no supervivientes, destacamos dos aspectos: 1) el resto de predictores de evento fatal o factores de protección se mantenía de forma estable, y 2) el área bajo la curva de la curva ROC fue de 0.839 (IC 95% 0.75-0.925, $p < 0.000$), según se observa en la Tabla 32.

Tabla 32. Analisis multivariante (regresion logistica por pasos) de factores de riesgo para Mortalidad, con exclusión de los factores de virulencia, en pacientes con bacteriemia por *E. coli*

Variable	β	SE (β)	OR	95% CI	P
Tratamiento QT activo	2.365	0.756	10.640	2.417 - 46.840	0.002
Índice McCabe-Jackson					0.027
No fatal	-	-	-	-	
Rápidamente fatal	2.542	1.261	12.702	1.072 - 150.436	0.044
Últimamente fatal	3.567	1.349	35.414	2.515 - 498.686	0.008
Índice de Pitt	0.519	0.162	1.680	1.223 - 2.307	0.001
Genes P fimbria	-1.280	0.636	0.278	0.080 - 0.968	0.044
Constante	-4.114	1.280	0.016		0.001

Asimismo se realizó el análisis de regresión logística incluyendo en el modelo además de las variables comentadas en el análisis principal, exclusivamente los genes *cnf* y *blaTEM*, dada su asociación a la severidad de la sepsis. La inclusión de estas variables no modificaba el modelo, persistiendo como predictores los referidos anteriormente.

DISCUSIÓN

5. Discusión

La participación o papel de los factores de virulencia de *E. coli* en el desarrollo o evolución de los cuadros infecciosos es todavía controvertido, en este contexto del conocimiento presentamos los resultados de un trabajo de investigación, prospectivo diseñado para evaluar el posible papel que los factores de virulencia de *E.coli* pudieran tener en el desarrollo de sepsis grave o muerte en pacientes con bacteriemia de cualquier origen por dicho patógeno.

5.1. Pacientes incluidos en el estudio

Los datos epidemiológicos relacionados con las bacteriemias por *E. coli* disponibles son dispares, fundamentalmente en relación a la población de donde son extraídos los mismos, estudios poblacionales difieren de series hospitalarias como era de esperar por el propio diseño.

Haremos un breve repaso de nuestros datos epidemiológicos haciendo referencia a aquellos disponibles en la literatura para evaluar en cuanto difieren o se parecen nuestras poblaciones de cara a poder extrapolar o no las conclusiones a otros contextos epidemiológicos distintos del aquí recogido.

Planteamos esta comparación de forma general con grandes series de bacteriemias por *E. coli* y de forma particular con estudios similares al nuestro en los que se trata de evaluar la posible implicación de determinados factores genéticos de *E. coli* con desarrollo de sepsis o mortalidad.

5.1.1.Comparación de la población de estudio con otras series de bacteriemias por *E.coli*.

Globalmente la población incluida en este estudio son mujeres y varones en similar proporción, de edad avanzada y con importante comorbilidad que presentan un episodio de bacteriemia por *E. coli* de origen nosocomial en el 44% de los casos, de origen comunitario en otro 44% y el resto relacionados con los cuidados sanitarios. Respecto a la fuente de la bacteriemia, el 47,5% de los casos eran de origen abdominal, el 33,3% eran de origen urinario, el 3,3% asociados a catéter y el 14,2%

restantes de otros focos o desconocido. De forma secundaria a la bacteriemia el 42% de los pacientes no tenían criterios de SRIS, el 20,16% tenían criterios de sepsis leve, el 28,57% tenían criterios de sepsis grave, y el 9,24% de shock séptico. La tasa de mortalidad fue del 27.7%, aunque de los 33 fallecidos totales, en 21 casos se consideró que el fallecimiento no estaba relacionado con la bacteriemia.

Edad, sexo y comorbilidad

La población incluida en nuestro estudio tenía una edad media elevada, con casi el 70% de la misma por encima de los 65 años de edad. Este dato es acorde con la curva epidemiológica expuesta con el estudio poblacional canadiense de bacteriemias por *E. coli* [48] donde la edad media era de 67 años. La edad de los pacientes con infecciones de origen nosocomial era mayor con respecto a los de origen comunitario, similar a los hallazgos de Laupland *et al* [48] (la edad media de pacientes con infección comunitaria era de 65 años, frente a los 69 de los de origen nosocomial y los 71 años de edad de los casos relacionados con los cuidados sanitarios, diferencias estadísticamente significativas), aunque en nuestra serie estas diferencias no eran significativas.

Respecto a la distribución por sexos en nuestra serie, prácticamente la mitad eran varones y la otra mitad mujeres, mientras que la observada en la serie poblacional canadiense [48] tenía un predominio femenino (60%) a expensas de las edades más jóvenes.

Respecto a la comorbilidad asociada, previa a la bacteriemia, en nuestra muestra encontramos un índice de Charlson medio de 3 puntos, con el 54% de la población con más de 2 puntos. La serie de Laupland *et al* [48] no presenta datos referentes a la escala de Charlson, pero el 22% de los pacientes presentaban algún tipo de enfermedad neoplásica sólida, el 19% diabetes mellitus y el 21% enfermedad cardíaca, todos ellos parámetros incluidos en el índice de Charlson. Series nacionales, más pequeñas y tan solo con inclusión de casos de bacteriemias por *E. coli* productor de BLEE presentan un índice de Charlson medio de 4 [39] o superior a 2 en el 42% de la población incluida [166], con una tendencia no significativa entre la comorbilidad y el origen nosocomial o relacionado con la asistencia sanitaria. Datos todos ellos no muy dispares de los presentados en nuestra serie, la mayor comorbilidad de nuestros pacientes puede estar en relación con la alta proporción de episodios nosocomiales.

Foco de la bacteriemia

En nuestra serie casi la mitad de los casos el foco de la bacteriemia era intraabdominal, el 33% urinarios y el resto de foco desconocido u otro. Este dato es discretamente discrepante con los datos procedentes de otras series poblacionales u hospitalarias [39,48,51,52], donde el foco más frecuente es el urinario. Se podría explicar esta diferencia por el perfil de nuestra serie con importante número de infección nosocomial postquirúrgica abdominal.

Origen de la bacteriemia

En nuestra serie encontramos que el 44,2% de los episodios eran nosocomiales, otro 44,2% adquiridos en la comunidad y el 11,6% relacionado con los cuidados sanitarios.

Estos porcentajes son similares a los hallados por otros investigadores en series generales de bacteriemias de cualquier etiología, aunque existe gran variabilidad en dichos porcentajes entre los distintos trabajos, fundamentalmente debidos al diseño de los mismos [28,35,37,38,44].

Si nos centramos en series tan solo de bacteriemias por *E. coli*, encontramos también porcentajes variables en función de la población donde centren el estudio. Nuestra serie puede estar sobrevalorando las bacteriemias de origen nosocomial dado que muchos de los episodios no graves asociados fundamentalmente a foco urinario no precisan ingreso hospitalario (criterio de inclusión en nuestro estudio). Así encontramos que la proporción de bacteriemias comunitarias (53%) en el estudio de base poblacional de Laupland [48] era significativamente mayor al nuestro por dicho motivo. Esto se podría interpretar como un sesgo de selección respecto a series poblacionales como la de Laupland *et al* [48]. El alto porcentaje de infección de origen nosocomial puede ser debido a que el propio diseño del estudio ha podido excluir casos de infecciones comunitarias del tracto urinario bacteriémicos que no precisaban ingreso.

Mortalidad

La tasa de mortalidad de nuestra serie fue del 27,7%, aunque de los 33 fallecidos totales, en 21 casos se consideró que el fallecimiento no estaba relacionado con la bacteriemia, en 7 casos se consideró la bacteriemia como la causa de la muerte, en 4 como posible y en un paciente como probable.

Comparados con la mortalidad publicada en otras series, y que se establece en el amplio margen del 5% al 30% [47,48,51,53–65], nuestros datos se encuentran dentro de lo esperado, quizá en el límite más alto por el alto número de pacientes de edad elevada, de origen no comunitario y foco no urinario y con importante comorbilidad.

Mortalidad y momento de inicio del tratamiento antimicrobiano

El momento del inicio del tratamiento empírico en general en todas las enfermedades infecciosas determina su pronóstico. A este respecto tenemos suficientes datos para entender que la precocidad en iniciar el tratamiento empírico adecuado en situaciones de sepsis y/o bacteriemias es determinante en su pronóstico; así estudios llevados a cabo en neumonías [167,168], sepsis grave en unidades de cuidados intensivos [169,170] y bacteriemias [171,172] lo corroboran. Incluso la duración del periodo con hipotensión desde el inicio de los síntomas al inicio del tratamiento se considera determinante [173] para la supervivencia.

Pero no solo el momento de inicio del tratamiento antimicrobiano impacta en el pronóstico, también el “acertar” con el o los principios activos seleccionados en el tratamiento empírico [174,175].

A este respecto en nuestra serie, no podemos considerar que ni la demora en el inicio del tratamiento (media de 7h de demora en el inicio del tratamiento antimicrobiano, con el 51% de los pacientes tratados en la primera hora) ni la selección del tratamiento empírico hayan podido contribuir sustancialmente a la mortalidad, ya que fue precoz en todos los casos y adecuado según el estudio de sensibilidad del aislamiento obtenido posteriormente (esto es así con excepción de los pacientes en que por diversos motivos se decidió no tratar activamente, la mayoría de ellos en tratamiento sintomático paliativo), y no diferente entre los grupos de comparación.

5.1.2. Comparación de la población de estudio con trabajos de similar diseño

Dado que presentamos datos discordantes respecto a la capacidad de predicción de determinados genes de virulencia de *E. coli* de sepsis grave y mortalidad con otros trabajos que también han tratado de evaluar el impacto dichos genes en los mismos o similares parámetros clínicos debemos, antes de discutir otros aspectos, evaluar si las poblaciones son comparables entre sí.

En relación a los parámetros demográfico epidemiológicos, todos los estudios incluyen una población añeja con distribución por sexo similar como se recoge en la Tabla 33, excepto la recogida por Skjøt-Rasmussen *et al* [65] en la que predomina la población femenina, probablemente secundario a que dicho estudio todos los episodios son de origen urinario.

Otra diferencia que llama la atención es el alto porcentaje de infección nosocomial en los datos del estudio COLIBAFI [63], comparado con los otros estudios y nuestros propios datos. Probablemente esté en cierta medida sobreestimado dado que la definición que proponen los autores en la sección de material y métodos para considerar el origen nosocomial de la bacteriemia es “Bacteremia episodes were defined as being nosocomial when the first positive blood culture was obtained ≥ 48 h following hospital admission. Otherwise, bacteremia was considered community acquired.”, quizá con ella se incluyó pacientes de origen comunitario, clasificados como nosocomiales por una toma tardía de los hemocultivos.

Tabla 33. Resumen clínico epidemiológico de los estudios relacionados con genes de virulencia y sepsis o mortalidad

Estudio	n	Edad media	Sexo varón	Origen nosocomial	Foco Urinario
Hekker <i>et al</i> , 2000 [147]	30	36% > 70 a	56.6%	-	36.6%
Jaureguy <i>et al</i> , 2007 [145]	161	51% >65 a	52%	38.5%	47.2%
Lefort <i>et al</i> , 2011 [63]	1055	70	42.5%	81.7%	56.9%
Skjøt-Rasmussen <i>et al</i> , 2012 [65]	196	79	32%	10.7%	100%
El presente trabajo	120	70	49,6%	53%	33.3%

Otros parámetros fundamentales a evaluar a la hora de comparar los resultados de los referidos estudios es la definición de sepsis, sepsis grave y shock séptico. En los de Lefort [63] y Skjøt-Rasmussen [65] este dato no se recoge. En el de Hekker [147],

aunque bien definido según los criterios de Bone *et al* [176], los datos se tomaron de forma retrospectiva. El trabajo de Jauréguy *et al* [145] tiene una recogida prospectiva de los datos referentes a la sepsis y con una adecuada definición de los mismos, según los criterios de Bone *et al* [10].

La mortalidad recogida en la serie de Jauréguy *et al* [145] es sustancialmente inferior a la de nuestra serie (18.6% vs 38%, ver Tabla 34), esta diferencia puede deberse a las diferencias clínico epidemiológicas de ambas series, dado que en el caso de Jauréguy *et al* [145], había más casos de origen comunitario, de foco urinario y en población discretamente más joven.

Tabla 34. Resumen clínico epidemiológico de los estudios relacionados con genes de virulencia y sepsis o mortalidad (y2)

Estudio	n	Sepsis grave y/o shock séptico	Mortalidad global
Hekker <i>et al</i> , 2000 [147]	30	43%	50%
Jauréguy <i>et al</i> , 2007 [145]	161	18.6%	11.1%
Lefort <i>et al</i> , 2011 [63]	1055	-	12.9%
Skjøt-Rasmussen <i>et al</i> , 2012 [65]	196	-	12%
El presente trabajo	120	38%	27.7%

Pese a las diferencias descritas no parece existir motivos epidemiológicos que justifiquen las diferencias encontradas en la capacidad de determinados genes para predecir sepsis grave o mortalidad entre las series presentadas y nuestros datos, como se discutirá más adelante.

5.2. Aislados de *E. coli*

Los 120 aislados de *E. coli* estudiados en el presente trabajo de investigación fueron altamente diversos desde el punto de vista genético, con una relativamente baja presencia de resistencias a antimicrobianos.

Si nos centramos inicialmente en la sensibilidad a los antimicrobianos de los 120 aislados del estudio encontramos que más del 90% de los aislados eran sensibles a carbapenemicos, cefalosporinas y betalactámicos asociados a inhibidores de betalactamasas. La familia más afectada por mecanismos de resistencia fueron las quinolonas, con un 38% de resistencia al ácido nalidíxico y un 27% a ciprofloxacino. Tan solo el 5% de los aislados fue productor de una betalactamasa de espectro

extendido (BLEE), siendo su distribución desigual según el origen de la infección con un 7.7% de cepas productoras de BLEE entre los casos de origen nosocomial, el 7.1% en los relacionados con la asistencia sanitaria, y tan solo un 1.9% entre los de origen comunitario.

La prevalencia de BLEEs en Europa desde la descripción de las mismas en Alemania y Francia ha variado de forma considerable, desde unas tasas de hasta el 35% de las cepas de *Klebsiella spp* de origen nosocomial en hospitales franceses [177] hasta cifras tan “bajas” como el 8% [178] en los últimos años debido sobretudo a la aplicación de medidas de control de infección. Aunque inicialmente este mecanismo de resistencia se asoció con infección de origen nosocomial, estancias hospitalarias prolongadas y de alto intervencionismo y exposición previa a antimicrobianos, estudios poblacionales más recientes describen la producción de BLEE hasta en un 7% de las bacteriemias por *E. coli* de origen comunitario [179]. Con esta variabilidad tanto geográfica como cuantitativa además de la relacionada con el origen de la infección, el hallazgo de un 5% global de cepas productoras de BLEE en nuestra serie no resulta sorprendente.

Respecto a la diversidad genética poblacional encontramos que los 120 aislados incluidos presentaban una estructura mixta formada por la mitad de ellos de origen clonal epidémico, y la otra mitad formada por múltiples aislados esporádicos únicos. Esta estructura poblacional es similar a la hallada en otra colección procedente del mismo centro hospitalario en muestras de orina y sangre [117]. Podemos observar que el clon más frecuente, con 14 casos de los 120 aislados incluidos fue el ST 131, dato no sorprendente dado que es uno de los más ampliamente distribuidos a nivel mundial [180].

El clon ST 131, de distribución mundial, perteneciente al grupo filogenético B y serogrupo O25b:H4, es muy frecuentemente portador de la betalactamasa de espectro extendido de la familia A de Ambler CTX-M-15 [181]. Dicha betalactamasa parece distribuida a nivel mundial por dos clones distintos, el ST 131 y el ST 405 [182]. En distintos modelos animales este clon ST 131 ha demostrado mayor virulencia pese a incluso portar menos factores de virulencia que las cepas de control como pueden ser *papC*, *cnf1* y *Hyla* [181,183].

La diversidad genética referente a la presencia de los distintos factores de virulencia analizados fue todavía mayor que la distribución de SAPs, con tan solo 21

perfiles que aparecían más de una vez, o lo que es mismo, 99 perfiles únicos. Si comparamos nuestros datos de prevalencia de estos genes con aquellos evidenciados por otros autores encontramos que aun con diferencias las frecuencias encontradas son similares (Tabla 35).

Tabla 35. Prevalencia de los distintos genes de virulencia en otros estudios

	Hekker <i>et al</i> [147]	Jaureguy <i>et al</i> [145]	Lefort <i>et al</i> [63]	Skjøt-Rasmussen <i>et al</i> [65]	Presente trabajo
<i>pap C</i>	ND	49,4	50	ND	48,3
<i>pap G allele I</i>	ND	ND	ND	ND	0
<i>pap G allele II</i>	ND	29,2	39	ND	30
<i>pap G allele III</i>	ND	16,8	10	ND	10
<i>afaB/C</i>	ND	ND	ND	3	2,5
<i>fimH</i>	ND	ND	ND	98	95,8
<i>lha</i>	ND	ND	30	50	35
<i>sfa/foc DE</i>	ND	29,2	26	34	20
<i>cdtB</i>	ND	ND	ND	9	5,8
<i>cnf1</i>	36,6	29,8	19	29	14,2
<i>hlyA</i>	ND	31,7	26	34	23,3
<i>Sat</i>	ND	ND	30	45	26,7
<i>Usp</i>	ND	ND	53	68	57,5
<i>kps MTII</i>	ND	ND	ND	83	55
<i>ompT</i>	ND	ND	72	ND	75
<i>iroN</i>	ND	57,8	58	56	50,8
<i>fyuA</i>	ND	77,6	77	92	75,8
<i>iutA</i>	ND	ND	ND	75	69,2
<i>iucD</i>	ND	65,8	65	ND	64,2
<i>ireA</i>	ND	ND	30	33	19,2
<i>malX</i>	ND	ND	ND	65	56,7
<i>Svg</i>	ND	ND	ND	ND	10
<i>ibeA</i>	ND	ND	8	12	13,3
<i>tratT</i>	ND	ND	64	13,4	63,3
<i>cvaC</i>	ND	ND	0	ND	36,1

Datos expresados en porcentajes

Además de los genes de virulencia de *E. coli* referidos en la Tabla 33, los distintos autores de dichos trabajos determinaron otros genes o moléculas en relación a la virulencia de *E. coli* no realizados en el presente trabajo de investigación. Así Hekker *et al* [147] determinaron los grupos O y los tipos K, la expresión de la fimbrias P, la producción de hemolisina, la resistencia al suero, la quemoluminiscencia y la resistencia a los fagocitos. Por otro lado en el estudio COLIBAFI [63] se determinó la

presencia de *hra*, *irp2* y *neuC*. Y finalmente el estudio más moderno, y el que más genes de virulencia determinó [65], añade a los de la tabla: *bmaE*, *focG*, *gafD*, *papAH*, *chuA*, *iss*, *kps MII K2*, *kps M III*, y los genes relacionados con la formación de biofilm *agn43*, *agn43a (CFT073)* *agn43b (CFT073)* *agn43 (K12)*.

El gen más prevalente de nuestra serie, presente en el 96% de las cepas estudiadas fue *fimH*, prevalencia similar a la serie de Skjøt-Rasmussen *et al* (64) y Wang *et al* [121]. Datos de similar prevalencia se aprecian en el estudio de Moreno *et al* [144], con un 79% de aislados pertenecientes al grupo filogenético A portadores de *fimH*, un 100% de los pertenecientes al grupo filogenético B1, un 100% del grupo B2 y un 94% del grupo D. Todo ello pone en discusión si se trata de un factor de virulencia o un elemento patogénico imprescindible para *E coli* [140].

5.3. Determinantes clínicos y microbiológicos de sepsis grave

El análisis multivariante de nuestros datos mostró que el índice de Pitt y la presencia de los genes *cnf* y *bla_{TEM}* se asociaban de manera independiente con cuadro de sepsis grave.

El índice de Pitt se ha mostrado como buen predictor de gravedad y mortalidad en diversos estudios de bacteriemias por diferentes microorganismos [39,151,184,185] e incluso las guías clínicas de atención a la bacteriemia lo incluyen como parámetro para evaluar la gravedad inicial de los pacientes y ayudar en la compleja toma de decisiones terapéuticas [186]. El hecho de que el índice de Pitt en nuestra serie se asocie con la gravedad de la serie le da validez interna a los datos recogidos.

5.3.1. Presencia de *cnf* como determinante de severidad de sepsis

El factor citotóxico de necrosis (CNF 1 y 2), codificado por el gen *cnf*, a través de modificaciones de la señalización intracelular logra alteraciones importantes del citoesqueleto, multinucleación y aumento del tamaño celular y necrosis de la célula huésped con la consiguiente muerte celular [187].

La toxicidad de esta proteína, CNF, de 113 kDa se puede atribuir a su capacidad de activar de forma constitutiva la familia de las GTPasas Rho: Rho A, Rac

y Cdc42 [188]. La activación de estas GTPasas Rho afecta a múltiples funciones de células eucariotas, incluyendo la formación de fibras de actina de stress, lamelapodia, filopodia. La inducción del erizado de la membrana y la modulación de las vías de señalización intracelulares [189]. Para ejercer su acción CNF debe llegar al citosol de la célula huésped mediante la unión al precursor del receptor de laminina de la superficie de la célula a infectar, desencadenando la incorporación de la toxina al compartimento endosomal. Las condiciones de acidosis de este compartimento induce la translocación del dominio catalítico de CNF a través de la membrana vesicular y dentro del citosol de la célula infectada, donde estimula la familia de las GTPasas Rho [188]. La prolongada activación de la familia de las GTPasas Rho lleva a su ubiquitinización y subsecuente degradación. La activación de las GTPasas Rho mediada por CNF es un fenómeno temporal, y la citotoxicidad relacionada con CNF es debida ambas situaciones: la activación aberrante de Rho y su subsecuente degradación. El mecanismo por el que CNF se incorpora a las vesículas de la membrana externa y el papel específico de estas vesículas en la liberación de CNF a la célula huésped no es conocido [91,159].

La presencia de *cnf* en el genoma de *E.coli* es muy variable dependiendo de si se trata de cepas comensales o patógenas, e incluso en los casos de cepas de *E. coli* patógenas, según los distintos patotipos y grupos filogenéticos.

Antes de discutir los hallazgos propios de esta serie y su asociación con la gravedad de la sepsis, conviene revisar la frecuencia de este gen en otras series, dada esa variabilidad. Existen series de cepas comensales con tan solo un 5% de ellas portando *cnf* en su genoma [190], y en el extremo opuesto el 81% encontrado en cepas procedentes de ITUs [191]. Como podemos apreciar en la Tabla 36, la variabilidad de la presencia del gen *cnf* es muy importante. La mayor frecuencia se encuentra asociada al grupo filogenético B2 [192] y a las infecciones de origen urinario [121,142,191,193].

Tabla 36. Frecuencia de expresión del gen *cnf* en distintos estudios publicados

Referencia	Características y número	Prevalencia <i>cnf</i>
Hekker <i>et al</i> , 2000 [147]	30 Bacteriemias, 37% de foco urinario	36.6%.
Johnson & Stell, 2000 [111]	75 Sepsis de origen urinario	16%
Johnson <i>et al</i> , 2001 [194]	182 Bacteriemias, focos no especificados	27%
Johnson <i>et al</i> , 2001 [192]	72 Población ECOR	11.1% global 40% en grupo B2
Duriez <i>et al</i> , 2001 [190]	168 Cepas comensales	3.6%
Wang <i>et al</i> , 2002 [121]	24 Colangitis bacteriémicas 51 ITUS bacteriémicas 30 cepas comensales control	8% en colangitis 41% en ITU
Johnson <i>et al</i> , 2002 [193]	182 Bacteriemias, 53% de foco urinario o pulmonar Cepas controles ECOR	61% global 35% urinario o pulmonar 16% resto de focos
Ruiz <i>et al</i> , 2002 [191]	111 cistitis, pielonefritis y prostatitis	39% cistitis 50% pielonefritis 81% prostatitis
Bingen-Bidois <i>et al</i> , 2002[195]	100 Sepsis urinaria	21%
Johnson <i>et al</i> , 2005 [146]	100 Cistitis no complicadas	34%
Moreno <i>et al</i> , 2005 [142]	50 Bacteriemias urinarias 50 Bacteriemias no urinarias 50 pielonefritis sin bacteriemia	31% 44% en ITU bacteriémica
Lavigne <i>et al</i> , 2006 [196]	33 ITU BLEE 99 controles ITU no BLEE	38%
Moreno <i>et al</i> , 2006 [144]	50 cistitis, 50 PNF, 50 sepsis urinaria con BSI 50 sepsis no urinaria con BSI	<10%
Bonacorsi <i>et al</i> , 2006 [143]	32 ITU bacteriémicas 51 ITU no bacteriémicas	25%
Jauréguy <i>et al</i> , 2007 [145,197]	161 Bacteriemias, 41% origen urinario	29% Global 40% en Shock 27.5% en no Shock
Ananias & Yano, 2008 [159]	60 Bacteriemias (58 de ellos fallecidos del episodio)	21.7%
Rijavec <i>et al</i> , 2008 [198]	105 Bacteriemia de origen urinario	12%
Cooke <i>et al</i> , 2010 [199]	303 bacteriemias, 51% de origen urinario	27%
Lefort <i>et al</i> , 2011 [63]	1051 bacteriemias, 56.9% de origen urinario	20%
Skjøt-Rasmussen <i>et al</i> , 2012 [65]	196 bacteriemias de origen urinario	29%
Marschall <i>et al</i> , 2012 [141]	156 ITU, 15% con bacteriemia	17%
Rodríguez-Baño <i>et al</i> , 2012 [200]	191 bacteriemias por BLEE	2%

PNF, pielonefritis; FV, factores de virulencia; BLEE, Betalactamasas de espectro extendido; ITU, infección del tracto urinario

En nuestra serie encontramos que la presencia de *cnf* en el genoma de *E. coli* incrementaba el riesgo de forma independiente de otros factores de tener un cuadro de sepsis grave o shock séptico. Desde el punto de vista de la plausibilidad biológica considero que con los efectos tóxicos a nivel de la célula huésped comentados previamente se podría justificar este incremento de la gravedad del cuadro inflamatorio exagerado en respuesta a la bacteriemia. Lo que no queda explicado es porque en series de similar diseño en las que se ha investigado la presencia de *cnf* no se haya encontrado este efecto, únicamente Jauréguy *et al* [145] encontraron una frecuencia mayor de *cnf* en los pacientes con shock séptico comparado con lo que no tenían shock pero estas diferencias no fueron significativas.

5.3.2. Presencia de *bla*_{TEM} como determinante de severidad de sepsis

La enzima *bla*_{TEM} pertenece a la gran familia de las betalactamasas tipo A según la clasificación de Ambler [201] y tiene una alta prevalencia entre los bacilos gramnegativos. Esta determinada y transmitida por plásmidos, lo que facilita su transmisibilidad intra e interespecies. Lo habitual es que un mismo bacilo gram negativo exprese varias betalactamasas al mismo tiempo, de ellas la TEM tipo 1, la determinada en este estudio, sería la precursora de la que por cambios en diversos aminoácidos serán las TEM tipo 2 y superiores que determinan mayor resistencia a betalactámicos [201–203].

TEM 1, la betalactamasa plasmídica más frecuente entre las bacterias gram negativas entéricas, fue descrita por primera vez por Datta y Kontomichalou [204] en un paciente griego en 1965, desde entonces el conocimiento de la misma, y sus sucesoras se ha incrementado de manera exponencial [201]. TEM 1 hidroliza ampicilina y en menor medida carbenicilina, oxacilina y cefalotina, siendo inhibida en presencia de ácido clavulánico. TEM 1, así como TEM 2 y TEM 13, relacionadas estructuralmente entre sí, no son BLEEs, aunque todas las demás betalactamasas de la familia TEM (más de 100 identificadas hasta la fecha) si tiene actividad de betalactamasa de espectro extendido [201].

La relación de la presencia de *bla*_{TEM} con la severidad de la sepsis hallada en el presente trabajo no tiene una explicación clínica ni biológica aparente, y debe ser

independiente de su actividad betalactamasa ya que todos los pacientes fueron adecuadamente tratados (incluido el momento del tratamiento empírico) con antimicrobianos adecuados según el antibiograma, foco y vía de administración. Esto sugiere que *bla_{TEM}* puede ser un marcador de la presencia de algún otro factor de virulencia, siendo según los datos recogidos en este estudio imposible de determinar.

5.4. Determinantes clínicos y microbiológicos de mortalidad

El análisis multivariante de nuestros datos mostró que los factores dependientes del huésped, el índice McCabe-Jackson, el tratamiento activo con quimioterapia y el índice de Pitt, así como la presencia del gen *fyuA* se asoció de forma independiente con la evolución fatal de la bacteriemia. Sin embargo ese mismo análisis mostró que la presencia de cualquiera de los genes que codifican para las proteínas de las Fimbrias P de *E. coli* jugaba un papel protector.

Ninguno de los genes que se asociaron de forma independiente con gravedad de la sepsis, *cnf* y *bla_{TEM}*, se encontraron asociados con mal pronóstico en este nuevo análisis multivariante de mortalidad. Ni siquiera hubo una tendencia en el análisis univariante, ya que la presencia de dichos genes era similar entre los supervivientes y los pacientes con evolución fatal (15% de cepas de portadoras de *cnf* entre los supervivientes vs 12% en fallecidos, y 54% vs 60% respectivamente para *bla_{TEM}*).

5.4.1. Factores dependientes del huésped como determinantes de mortalidad: Índice de McCabe-Jackson, índice de Pitt y tratamiento quimioterápico activo.

El huésped determina en gran manera la gravedad y pronóstico de sus propias enfermedades, empezando por la exposición a factores de riesgo, hasta la gravedad final del episodio. Esto es aplicable no solo a las enfermedades infecciosas, sino también en otras áreas de la medicina.

En este sentido del papel del huésped en la evolución clínica del episodio bacteriémico en nuestra serie apreciamos mediante el análisis multivariante que el índice McCabe-Jackson, el tratamiento activo con quimioterapia y el índice de Pitt se

asociaron de forma independiente con la evolución fatal de la bacteriemia. Ninguno de estos resultados resulta sorprendente dado que ambas escalas, McCabe-Jackson y Pitt, son pronósticas. Respecto al tratamiento quimioterápico activo tampoco es sorprendente porque además de implicar el diagnóstico de cáncer, con un pronóstico variable en función de las distintas estirpes anatomopatológicas, el tratamiento quimioterápico conlleva importantes toxicidades incluidas la inmunosupresión que pueden condicionar la evolución de la infección. Todo esto al igual que comentábamos respecto al índice de Pitt y su asociación con gravedad de la sepsis le confiere validez interna a los datos recogidos.

El índice de McCabe-Jackson [151] es un índice del pronóstico vital del paciente en función de las enfermedades previas del mismo y de forma independiente del proceso agudo en el cual se evalúa. Este índice está ampliamente validado en distintos escenarios clínicos como bacteriemias por distintos patógenos [185,205–209], unidades de cuidados intensivos [210,211], asociado con prolongación de estancia hospitalaria [212] y patologías no infecciosas. Respecto a la asociación del índice de Pitt con la gravedad de la sepsis, ya se ha comentado en el apartado anterior. Respecto al cáncer y el tratamiento quimioterápico activo, ambos confieren en muchos casos per se un pronóstico vital empobrecido ya sea de forma directa o secundaria a complicaciones o toxicidades farmacológicas [213]. Es esperable en este escenario clínico que el acontecimiento de un cuadro infeccioso intercurrente aumente la mortalidad secundaria al mismo.

5.4.2. Presencia de *fyuA* como predictor de mortalidad

El hierro resulta esencial para múltiples de los fenómenos celulares pero este es un bien escaso. Para mejorar su aprovechamiento las bacterias patógenas, incluyendo *E. coli* en sus patotipos ExPEC, y más específicamente UPEC, han desarrollado múltiples estrategias para obtener hierro del huésped. Dentro de estas estrategias está el receptor del sideróforo yersiniabactina, codificado por el gen *fyuA*.

La presencia de estos sideróforos yersiniabactina codificados por el gen *fyuA* en las diferentes series es muy variable (Tabla 37), pero de todas formas bastante frecuente dentro del genoma de *E. coli*. Puede variar del 51% observado en una

colección de *E. coli* productor de BLEE [200] al 96% en una serie de niños con ITU [143].

De forma global en nuestra serie el gen *fyuA* se encontraba en el 75.8% de las cepas estudiadas, no encontrando diferencias significativas entre focos, respuesta inflamatoria a la sepsis ni origen. Únicamente se evidenció la diferencia en función de la evolución final del episodio, diferencia que se mantuvo en el análisis multivariante, encontrando que la presencia de *fyuA* se asociaba de forma independiente con evolución fatal de la bacteriemia.

La literatura al respecto de la asociación de este gen con mala evolución clínica es escasa y discrepante. Lefort *et al* [63] encontraron en el análisis univariante que este gen era más frecuente entre los supervivientes (78% vs. 66%) pero esta asociación se perdía en el análisis multivariante. Sin embargo el estudio de Jauréguy *et al* [145] mostraba una asociación opuesta, encontrando más frecuente la presencia del gen *fyuA* entre los fallecidos (87% vs. 78%), aunque este hallazgo no era estadísticamente significativo.

Tabla 37. Frecuencia de expresión del gen *fyuA* en distintos estudios publicados

Referencia	Características y número	Prevalencia <i>fyuA</i>
J R Johnson & Stell, 2000 [111]	75 Sepsis de origen urinario	93%
J R Johnson et al, 2001 [194]	182 Bacteriemias, focos no especificados	76%
J R Johnson et al, 2001 [192]	72 Población ECOR	63%
J R Johnson et al, 2002 [193]	182 Bacteriemias, 53% de foco urinario o pulmonar Cepas controles ECOR	76%
Bingen-Bidois et al., 2002 [195]	100 Sepsis urinaria	92%
J R Johnson et al, 2005 [146]	100 Cistitis no complicadas	78%
Moreno et al, 2005 [142]	50 Bacteriemias urinarias 50 Bacteriemias no urinarias 50 pielonefritis sin bacteriemia 50 cistitis,	84%
Moreno et al, 2006 [144]	50 PNF, 50 sepsis urinaria con BSI 50 sepsis no urinaria con BSI	90.7%
Bonacorsi et al, 2006 [143]	32 ITU bacteriemicas 51 ITU no bacteriémica Niños menores 3 meses	96%
Jauréguy et al, 2007 [145,197]	161 Bacteriemias, 41% origen urinario	77.6% Global Más frecuente en fallecidos (87.5% vs 77.7%, NS)
Ananias & Yano, 2008 [159]	60 Bacteriemias (58 de ellos fallecidos del episodio)	81.7%
Rijavec et al, 2008 [198]	105 Bacteriemia de origen urinario	74%
Cooke et al, 2010 [199]	303 bacteriemias, 51% de origen urinario	87%
Lefort et al, 2011 [63]	1051 bacteriemias, 56.9% de origen urinario	76.4% Global Más frecuente en supervivientes (66% vs 78%, p<0.0025), no significativo en modelo de RL
Skjøt-Rasmussen, et al, 2012 [65]	196 bacteriemias de origen urinario	92%
Marschall et al, 2012 [141]	156 ITU, 15% con bacteriemia	83%
Rodríguez-Baño et al., 2012 [200]	191 bacteriemias por BLEE	51%

5.4.3. Presencia de P fimbria como predictor de desenlace no fatal

Las fimbrias P, también denominadas PAP, de sus siglas en inglés pyelonephritis-associated pili, son algunas de las estructuras que *E. coli* puede exhibir. La designación con la letra P se deriva de la capacidad de estas fimbrias de unirse específicamente al antígeno del grupo sanguíneo P que contiene un residuo de D-galactosa-D-galactosa. Este enlace de las fimbrias no sólo es a los hematíes, sino también a un disacárido-galactosa específico que se encuentra en la superficie de las células del epitelio urotelial en aproximadamente el 99% de la población [69].

Estas fimbrias P son estructuras altamente complejas, codificadas por múltiples genes, desde *papC* que codifica la estructura basal que la ancla a la membrana externa de la pared bacteriana, hasta *papG* (en sus distintas variantes alélicas, las más frecuentes *I*, *II* y *III*) en el extremo libre de la fimbria [214]. Otros genes y sus respectivas proteínas que conforman la estructura helicoidal de estas fimbrias son: PapA, PapD, PapE, PapK, PapF y PapH [125,214].

La proteína Pap C es la estructura de la base de la fimbria P, situada en la membrana externa bacteriana, que actúa como factor de unión, conformando el conjunto chaperona-acomodador (usher) sobre el que se desarrolla la biogénesis de la fimbria [214]. Las distintas subunidades son trasladadas mediante la maquinaria Sec a través de la membrana interna, para después asociarse a las proteínas periplásmicas de la chaperona quien facilitará su paso a la membrana externa desde donde se secretaran y conformaran la estructura ordenada de la fimbria [125].

Por el contrario, la proteína Pap G se sitúa en el extremo más distal de las fimbrias P y media en la adhesión a la célula huésped [91] y en su inmunogenicidad con el huésped. Se han identificado 3 tipos de adhesinas PapG, nombradas *I*, *II* y *III*, que reconocen las variantes del cluster de diferenciación no proteico globotriasylyceramide de la superficie de la célula huésped, particularmente en el riñón [91]. Estas proteínas del extremo distal de las fimbrias P están codificadas por el gen *papG* en sus variantes alélicas *I*, *II* y *III* respectivamente.

No existe uniformidad en los diferentes estudios evaluados en la metodología para determinar la presencia e implicación de las fimbrias P. Aunque la mayoría de ellos realizan estudio genético por PCR de los genes *papC* y/o *papG* (alelos *I*, *II* y *III*),

existen algunos trabajos que estudian el resto de subunidades de la Fimbria P [65] o una reacción de aglutinación frente a proteínas de las fimbrias P [147].

Con estas pequeñas particularidades en la metodología de la determinación observamos en la Tabla 38 que la frecuencia de alguno de los genes que codifican para las fimbrias P puede variar del 25% [200] al 87% [143]. Si nos fijamos en los distintos genes analizados observamos que tan solo en la serie de Johnson *et al* [194] se identificó un 1% de la población con *papG alelo I* presente, siendo negativo en el resto de series que lo analizó. Respecto a *papC*, puede variar entre el 5% [195] al 87% [143], con la mayoría de los aislados entre el 40 y 50%. Las variantes alélicas *II* y *III* de *papG* se encuentran en proporciones variables, entre el 5% y el 71%, siendo una constante la mayor frecuencia de la variante alélica *II* respecto a la *III*.

La presencia de al menos uno de los genes que codifican para las fimbrias P en nuestra serie fue del 49.2%, dentro del amplio margen de frecuencia expuesto con anterioridad. Asimismo como en el resto de literatura, ninguna de las cepas estudiadas presentaba el *alelo I* de *papG*. El 30% de nuestras cepas presentaba una PCR positiva para *papGII* y un 10% para *papGIII*, proporciones similares a las halladas en otros estudios.

Todos los genes que están implicados en las Fimbrias P analizados en nuestro estudio se encontraban en mayor proporción entre los pacientes supervivientes que entre los fallecidos (54% vs 33.3% para *papC*, 33.3% vs 21.7% para *papGII*, 11.5% vs 6.1% para *papG III*). Estas diferencias se hicieron estadísticamente significativas y de forma independiente a otros factores en el análisis de regresión logística cuando se analizaron como la presencia de alguno de los 3 genes mencionados previamente (55.2% vs 33.3%, OR 0.094).

Tabla 38. Frecuencia de expresión genes de las Fimbrias P en distintos estudios publicados

Referencia	<i>papC</i>	<i>papG I</i>	<i>papG II</i>	<i>papG III</i>	Fimbrias P
Hekker <i>et al</i> , 2000 [147]	ND	ND	ND	ND	30% *
Johnson & Stell, 2000 [111]	77%	ND	71%	7%	76% **
Johnson <i>et al</i> , 2001 [194]	ND	1%	32%	18%	
Johnson <i>et al</i> , 2001 [192]	40.3%	0	20%	15.3%	36.1%**
Duriez <i>et al</i> , 2001 [190]	ND	ND	ND	ND	11.3% ***
Wang <i>et al</i> , 2002 [121]	ND	0	51.9%	6.6%	
Johnson <i>et al</i> , 2002 [193]	ND	1%	32%	18%	55% **
Ruiz <i>et al</i> , 2002 [191]	15% cistitis 57% pielonef 66% prostatitis	ND	ND	ND	ND
Bingen-Bidois <i>et al</i> , 2002 [195]	5%	0	59%	5%	
Johnson <i>et al</i> , 2005 [146]	46%	0	31%	17%	
Moreno <i>et al</i> , 2005 [142]	ND	0	49%	23%	
Lavigne <i>et al</i> , 2006 [196]	ND	0	30.3%	42.4%	
Moreno <i>et al</i> , 2006 [144]	ND	0	33.3%	15.2%	
Bonacorsi <i>et al</i> , 2006 [143]	87%	ND	67%	6%	
Jauréguy <i>et al</i> , 2007 [145,197]	49%	ND	29.2%	16.8%	
Ananias & Yano, 2008 [159]	65%	ND	61.5%	20.5%	
Rijavec <i>et al</i> , 2008 [198]	55%	ND	ND	14%	
Cooke <i>et al</i> , 2010 [199]	ND	0	41%	6%	
Lefort <i>et al</i> , 2011 [63]	50%	ND	39%	10%	
Skjøt-Rasmussen <i>et al</i> , 2012 [65]	ND	ND	ND	ND	71% +
Marschall <i>et al</i> , 2012 [141]	ND	ND	ND	ND	34% ++
Rodríguez-Baño <i>et al</i> , 2012 [200]	24%	0	16%	4%	

* por aglutinación; ** al menos un gen de P fimbrias presente; *** *pap*; + *papA-H*; ++ *prf* (*P-related fimbriae*, según [215]). Para características de las poblaciones y número de aislados incluidos en cada estudio ver Tablas 34y 35.

Los datos previos de la literatura relativos a la implicación de las fimbrias P en la mortalidad son discrepantes. Así Jauréguy *et al* [145] encontraron que el *alelo III* de *papG* estaba relacionado con pacientes inmunocompetentes, con infección de origen comunitario y con evolución fatal de la bacteriemia; sin embargo en el estudio COLIBAFI [63] *papG II* se asociaba con justo lo contrario, pese que de igual modo predominaba en pacientes con infección de origen urinario.

El mecanismo para este efecto protector encontrado en nuestra serie es desconocido, pudiendo estar relacionado con la importante inmunogenicidad que conllevan estos elementos móviles de *E. coli*, fenómeno que está llevando al desarrollo de patentes para vacunas asociadas a esta inmunogenicidad [216] lo que ayudaría a desarrollar una respuesta inmune más precoz y potente frente a la infección.

En otros trabajos se han encontrado genes protectores de evolución fatal, como en el llevado a cabo por Hekker *et al* [147]. Los autores encontraron que la producción de hemolisina, medida como producción proteica y no como la presencia del gen *hlyA* se asociaba de forma independiente con menor probabilidad de desarrollo de shock séptico, fallo multiorgánico y muerte, de forma independiente a los factores del huésped. Si bien es cierto que en nuestro trabajo sólo evaluamos la presencia o ausencia de determinados genes y no su expresión proteica, estos hallazgos en relación a *hlyA* no los corroboramos, encontrando que la presencia de *hlyA* entre los grupos de sepsis grave y leve y entre fallecidos y no fallecidos no presentó diferencias estadísticamente significativas, con una mayor presencia en los casos de sepsis grave (29% vs 20%) y menos en los fallecidos (14% vs 28%).

5.5. Consideracion finales: limitaciones del estudio y oportunidades de mejora

Después de la realización del presente trabajo y de la revisión exhaustiva de estudios similares llama la atención que, pese a tratarse de estudios de adecuada calidad metodológica, los resultados no sean definitivos y concordantes, puesto que tanto los trabajos previos como el presente expuesto en esta Tesis obtienen resultados significativos pero estos resultan discordantes entre si. Esta discordancia probablemente se explica por la compleja interrelación de las dos variables involucradas, el paciente y el patógeno. Más compleja si cabe en este caso ya que *E. coli* y huésped pueden convivir de forma simbiótica a nivel del colon.

En referencia al huésped, si bien es cierto que el número de pacientes incluidos en nuestro trabajo es comparativamente menor que en otras series multicéntricas [64] que pretendían esclarecer la posible implicación de los factores genéticos de *E. coli* en la evolución clínica de las infecciones bacteriémicas por dicho patógeno, el número de pacientes no parece ser el elemento clave para obtener dichos resultados.

Un factor importante dependiente del huésped, y que puede estar involucrado en nuestro estudio, es su diversidad y la dificultad en hacerla completamente comparable. El uso de múltiples escalas, de sepsis, de comorbilidad, pronósticas, etc..., en un intento de homogeneizar a los pacientes no parece simplificar de forma completa este factor, y puede que deba modificarse el abordaje, ya que solo incrementando el número de individuos incluidos puede no ser suficiente. A este respecto, la genómica humana puede en el futuro identificar factores genéticos cuyos efectos se solapen con los de los parámetros clínicos utilizados de forma habitual actualmente. Por poner un ejemplo hipotético, quizá haya personas genéticamente más susceptibles a CNF que hoy identificamos parcialmente por su edad o su estado inmune. En referencia también al huésped, la escasa mortalidad relacionada con la bacteriemia observada en el presente trabajo puede limitar las conclusiones referentes a factores genéticos de *E. coli* asociados con el mal pronóstico.

La diversidad genética de *E. coli* también dificulta este tipo de estudios. La mayoría de los trabajos publicados, incluyendo éste, analizan una serie limitada (en torno a 20 ó 25) de factores de virulencia conocidos y definidos previamente, pero que suponen aproximadamente un 0.5% del genoma completo y un 0.1% del pangenoma

de *E. coli*, lo que resulta claramente poco representativo su genoma total. Uno de los posibles abordajes de esta cuestión es la secuenciación genómica completa del patógeno, que podría identificar nuevos genes asociados a situaciones clínicas definidas o quizá descartar la existencia de asociaciones significativas. Otro abordaje que unifica el patógeno es seleccionar únicamente el clon actualmente más prevalente a nivel mundial, el ST131. No podemos dejar de lado que la selección del clon ST131 tiene dos inconvenientes fundamentales por un lado, esto deja fuera del estudio a muchos pacientes infectados por otros clones y además, aunque los aislados pertenecientes a ST131 son mucho más homogéneos tampoco son idénticos.

Además cabe destacar que la detección de la presencia de un determinado gen no implica obligatoriamente la expresión del mismo y por ende su actividad. Este análisis de expresión proteica y actividad aunque pueda dar mayor solidez a los datos, la dificultad técnica que conlleva lo aleja de la aplicabilidad clínica que en el fondo se pretende.

Concluir que, por todo lo previamente expuesto, probablemente el estudio de la interrelación huésped-patógeno y su correlación con gravedad clínica o mal pronóstico en infecciones por *E. coli* deba modificarse conceptualmente, dando paso a tecnología de secuenciación genómica completa de ambos elementos y uso de herramientas informáticas potentes para el análisis de los datos.

CONCLUSIONES

6. Conclusiones

1. Determinados factores de virulencia de *E. coli* pueden estar implicados en el desarrollo de sepsis grave/shock séptico y muerte en pacientes con bacteriemia por dicho patógeno. Sin embargo, los factores clásicos dependientes del huésped siguen jugando un papel pronóstico fundamental.
2. El índice de Pitt y la presencia de los genes de *E. coli* *cnf* y *bla_{TEM}*, se asocian significativamente con desarrollo de sepsis grave o shock séptico.
3. El tratamiento quimioterápico activo, el índice McCabe-Jackson, el índice de Pitt y la presencia del gen *fyuA* se asocian de manera independiente con la evolución fatal de la bacteriemia.
4. La presencia de al menos uno de los genes que codifican las fimbrias P, *papC*, *papG alelo I* o *papG alelo II*, se asocia con una mayor supervivencia.
5. El papel de *bla_{TEM}* en el desarrollo de sepsis grave o shock séptico no está definido y parece independiente de su actividad betalactamasa.

REFERENCIAS

7. Referencias

1. WHO. Global Health Observatory. Causes of death in 2008. Available at: <http://www.who.int/gho/en/>. Accessed 3 July 2012.
2. Armstrong GL, Conn LA, Pinner RW. Trends in infectious disease mortality in the United States during the 20th century. *JAMA* 1999; 281:61–6.
3. ECDC. 2008 EARSS Annual Report. European Antimicrobial Surveillance System. 2008. Available at: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/Documents/2008_EARSS_Annual_Report.pdf. Accessed 3 July 2012.
4. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:1597-606.
5. Shlaes DM, Gerding DN, John JF, et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Clin Infect Dis* 1997;25:584–99.
6. Dellit TH, Owens RC, McGowan JE, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis* 2007; 44:159–77.
7. CDC. Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. 2012. Available at: <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-toolkit/index.html>. Accessed 14 July 2012.
8. ECDC. The bacterial challenge: time to react. 2009. Available at: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf. Accessed 14 June 2012.
9. WHO. World Health Statistics 2012. Available at: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS2012_Full.pdf. Accessed 3 July 2012.
10. Bone RC, Sprung CL, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure. *Crit Care Med* 1992; 20:724–6.
11. Marshall JC, Cook DJ, Christou N V, Bernard GR, Sprung CL, Sibbald WJ. Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit Care Med* 1995; 23:1638–52.
12. Bone RC, Grodzin CJ, Balk R a. Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis of the Disease Process. *Chest* 1997; 112:235–243.

13. Bossink a. WJ, Groeneveld a. BJ, Hack CE, Thijs LG. Prediction of Mortality in Febrile Medical Patients: How Useful Are Systemic Inflammatory Response Syndrome and Sepsis Criteria? *Chest* 1998; 113:1533–1541.
14. Opal SM. The uncertain value of the definition for SIRS. Systemic inflammatory response syndrome. *Chest* 1998; 113:1442–3.
15. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med* 2003; 29:530–8.
16. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *New Engl J Med* 2003; 348:1546–54.
17. Murphy SL, Xu J, Kochanek KD, Statistics V. National Vital Statistics Reports Deaths : Preliminary Data for 2010. *National Vital Statistics Reports* 2012; 60: 1-52. Available at: http://www.cdc.gov/nchs/data/nvsr/nvsr60/nvsr60_04.pdf. Accessed 15 July 2012.
18. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Critical Care Med* 2001; 29:1303–10.
19. ICD-9-CM. International Classification of Diseases, 9th revision, Clinical Modification. 3d edition, volumes 1, 2 and 3. Official authorized addendum effective October 1, 1990--HCFA. *Journal (American Medical Record Association)* 1990; 61:suppl 1–35.
20. Edwards JM, Kallan MJ, Carr BG. Benchmarking the Incidence and Mortality of Severe Sepsis in the United States. *Critical Care Med* 2013; 41;29:1–8.
21. Whittaker S, Mikkelsen ME, Gaieski DF, Koshy S, Kean C, Fuchs BD. Severe Sepsis Cohorts Derived From Claims-Based Strategies Appear to be Biased Toward a More Severely Ill Patient Population. *Critical Care Med* 2013;41:945–953.
22. Vincent J-L, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Critical Care Med* 2006;34:344–353.
23. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Critical Care Med* 2004; 32:858–873.
24. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *2008*;36:296–327.
25. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012. *Critical Care Med* 2013;41:580–637.

26. Annane D, Bellissant E, Cavaillon J-M. Septic shock. *Lancet* 2005; 365:63–78.
27. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988; 16:128–140.
28. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, et al. Health care-Associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med* 2002; 137:791–7.
29. Rodríguez-Baño J, De Cueto M, Retamar P, Gálvez-Acebal J. Current management of bloodstream infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8:815–29.
30. Reimer LG, Wilson ML. Update on detection of bacteremia and Update on Detection of Bacteremia and Fungemia. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10:444-65.
31. Weinstein M, Reller L. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis.* 1983;5:35-53.
32. Reacher MH, Shah A, Livermore DM, et al. Bacteraemia and antibiotic resistance of its pathogens reported in England and Wales between 1990 and 1998: trend analysis. *BMJ* 2000;320:213–6.
33. Rodríguez-Créixems M, Alcalá L, Muñoz P, Cercenado E, Vicente T, Bouza E. Bloodstream infections: evolution and trends in the microbiology workload, incidence, and etiology, 1985-2006. *Medicine* 2008; 87:234–49.
34. Uslan DZ, Crane SJ, Steckelberg JM, et al. Age- and sex-associated trends in bloodstream infection: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Arch Intern Med.* 2007;167:834-9.
35. Rodríguez-Baño J, López-Prieto MD, Portillo MM, et al. Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:1408–13.
36. Siegman-Igra Y, Fourer B, Orni-Wasserlauf R, et al. Reappraisal of community-acquired bacteremia: a proposal of a new classification for the spectrum of acquisition of bacteremia. *Clin Infect Dis* 2002; 34:1431–9.
37. Shorr AF, Tabak YP, Killian AD, Gupta V, Liu LZ, Kollef MH. Healthcare-associated bloodstream infection: A distinct entity? Insights from a large U.S. database. *Critical Care Med* 2006; 34:2588–95.
38. Vallés J, Calbo E, Anoro E, et al. Bloodstream infections in adults: importance of healthcare-associated infections. *J Infect* 2008; 56:27–34.

39. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, et al. Bacteremia due to extended-spectrum beta -lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Infect Dis* 2006; 43:1407–14.
40. Crane SJ, Uslan DZ, Baddour LM. Bloodstream infections in a geriatric cohort: a population-based study. *Am J Med* 2007; 120:1078–83.
41. De Kraker ME a, Jarlier V, Monen JCM, Heuer OE, Van de Sande N, Grundmann H. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clin Microbiol Infect* 2012; [Epub ahead of print]
42. Munford RS, Suffredini AF. Sepsis, severe sepsis, and septic shock. In: *Principles and Practice of Infectious Diseases (7th Edition)*. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds). Churchill Livingstone, PA, USA, 987–1010 (2010).
43. Albrecht SJ, Fishman NO, Kitchen J, et al. Reemergence of gram-negative health care-associated bloodstream infections. *Arch Intern Med* 2006; 166:1289–94.
44. Raymond NJ, Blackmore TK, Humble MW, Jones MR. Bloodstream infections in a secondary and tertiary care hospital setting. *Intern Med J.* 2006;36:765-72.
45. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997; 24:584–602.
46. Javaloyas M, García-Somoza D, Gudiol F. [Bacteremia due to *Escherichia coli*: epidemiological analysis and sensitivity to antibiotics in a county hospital]. *Med Clin (Barc)*. 2003;120:125-7.
47. Vázquez F, Mendoza MC, Viejo G, Méndez FJ, Vazquez F. Survey of *Escherichia coli* septicemia over a six-year period. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1992;11:110-7.
48. Laupland KB, Gregson DB, Church DL, Ross T, Pitout JDD. Incidence, risk factors and outcomes of *Escherichia coli* bloodstream infections in a large Canadian region. *Clin Microb Infect* 2008; 14:1041–7.
49. EPINE. Estudio de prevalencia de las infecciones nosocomiales en España 2011. Available at: <http://hws.vhebron.net/epine/>. Accessed 10 August 2012.
50. Sota Busselo M, Ezpeleta Baquedano C, Cisterna Cancer R. [Bacteremia: a Spanish multicenter study with 5000 cases. The Hospital Infection Study Group (GEIH)]. *Rev Clin Esp.* 1997;197 Suppl 5:3-9.
51. Olesen B, Kolmos HJ, Orskov F, Orskov I, Gottschau A. Bacteraemia due to *Escherichia coli* in a Danish university hospital, 1986-1990. *Scand J Infect Dis.* 1995;27:253-7.

52. Van der Bij AK, Peirano G, Goessens WHF, Van der Vorm ER, Van Westreenen M, Pitout JDD. Clinical and molecular characteristics of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* causing bacteremia in the Rotterdam Area, Netherlands. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:3576-8.
53. Gransden WR, Eykyn SJ, Phillips I, Rowe B. Bacteremia due to *Escherichia coli*: a study of 861 episodes. *Rev Infect Dis*. 1990;12:1008-18.
54. Kuikka a, Sivonen a, Emelianova a, Valtonen V V. Prognostic factors associated with improved outcome of *Escherichia coli* bacteremia in a Finnish university hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1997;16:125-34.
55. Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Morel KA, Munson E, Doern G V. Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. *J Clin Microbiol* 2003; 41:3655–60.
56. Jackson LA, Benson P, Neuzil KM, Grandjean M, Marino JL. Burden of community-onset *Escherichia coli* bacteremia in seniors. *J Infect Dis*. 2005;191:1523-9.
57. Alamgir S, Volkova NB, Peterson MW. Prognostic value of low blood glucose at the presentation of *E. coli* bacteremia. *Am J Med* 2006; 119:952–7.
58. Cheong HS, Kang C-I, Kwon KT, et al. Clinical significance of healthcare-associated infections in community-onset *Escherichia coli* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:1355–60.
59. Peralta G, Sánchez MB, Garrido JC, et al. Impact of antibiotic resistance and of adequate empirical antibiotic treatment in the prognosis of patients with *Escherichia coli* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:855–63.
60. Melzer M, Petersen I. Mortality following bacteraemic infection caused by extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E. coli* compared to non-ESBL producing *E. coli*. *J Infect* 2007; 55:254–9.
61. Russo T a, Johnson JR. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes Infect*. 2003; 5:449–56.
62. Kang C-I, Cheong HS, Chung DR, et al. Clinical features and outcome of community-onset bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27:85–8.
63. Lefort A, Panhard X, Clermont O, et al. Host factors and portal of entry outweigh bacterial determinants to predict the severity of *Escherichia coli* bacteremia. *J Clin Microbiol* 2011; 49:777–83.
64. De Kraker ME a, Davey PG, Grundmann H. Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

- bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. *PLoS Med.* 2011;8:e1001104.
65. Skjöt-Rasmussen L, Ejrnæs K, Lundgren B, Hammerum AM, Frimodt-Møller N. Virulence factors and phylogenetic grouping of *Escherichia coli* isolates from patients with bacteraemia of urinary tract origin relate to sex and hospital- vs. community-acquired origin. *Int J Med Microbiol.* 2012;302:129-34
 66. Theodor Escherich. Die Darmbakterien des Neugeborenen und Sauglings. *Fortschr. Med.* 1885:547–554.
 67. Yan F, Polk D. Commensal bacteria in the gut: learning who our friends are. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; :565–571.
 68. Johnson J. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: “The other bad *E coli*”. *J Lab Clin Med* 2002; 139:155–162.
 69. Todar’s. Pathogenic *E. coli*. In: Online textbook of bacteriology. 2008. Available at: <http://www.textbookofbacteriology.net/e.coli.html>. Accessed 15 Sept 2012.
 70. Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Organ* 2003; 81:197–204.
 71. Bettelheim K, Sussman M. *Escherichia coli* in the normal flora of humans and animals. In: Sussman M, ed. *Escherichia coli: mechanisms of virulence*. Cambridge: Cambridge University Press, 1997: 85–109.
 72. Sansonetti PJ. To be or not to be a pathogen: that is the mucosally relevant question. *Mucosal Immunol* 2011; 4:8–14.
 73. Ehlers S, Kaufmann SHE. Infection, inflammation, and chronic diseases: consequences of a modern lifestyle. *Trends Immunol* 2010; 31:184–90.
 74. Bäckhed F. Changes in intestinal microflora in obesity: cause or consequence? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 48 Suppl 2:S56–7.
 75. Vrieze a, Holleman F, Zoetendal EG, De Vos WM, Hoekstra JBL, Nieuwdorp M. The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. *Diabetologia* 2010; 53:606–13.
 76. Musso G, Gambino R, Cassader M. Obesity, diabetes, and gut microbiota: the hygiene hypothesis expanded? *Diabetes Care* 2010; 33:2277–84.
 77. Larsen N, Vogensen FK, Van den Berg FWJ, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PloS one* 2010; 5:e9085.

78. Abu-Shanab A, Quigley EMM. The role of the gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7:691–701.
79. Cesaro C, Tiso A, Del Prete A, et al. Gut microbiota and probiotics in chronic liver diseases. *Dig Liver Dis* 2011; 43:431–8.
80. Sokol H, Seksik P. The intestinal microbiota in inflammatory bowel diseases: time to connect with the host. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26:327–31.
81. Seksik P. [Gut microbiota and IBD]. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34 Suppl 1:S44–51.
82. Hansen J, Gulati A, Sartor RB. The role of mucosal immunity and host genetics in defining intestinal commensal bacteria. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26:564–71.
83. Arthur JC, Jobin C. The struggle within: microbial influences on colorectal cancer. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17:396–409.
84. Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 1996; 4:430–5.
85. Touchon M, Hoede C, Tenaillon O, et al. Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS Genet* 2009; 5:e1000344.
86. Chang D-E, Smalley DJ, Tucker DL, et al. Carbon nutrition of *Escherichia coli* in the mouse intestine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:7427–32.
87. Sweeney NJ, Laux DC, Cohen PS. *Escherichia coli* F-18 and *E. coli* K-12 *eda* mutants do not colonize the streptomycin-treated mouse large intestine. *Infect Immun* 1996; 64:3504–11.
88. Sweeney NJ, Klemm P, McCormick B a, et al. The *Escherichia coli* K-12 *gntP* gene allows *E. coli* F-18 to occupy a distinct nutritional niche in the streptomycin-treated mouse large intestine. *Infect Immun* 1996; 64:3497–503.
89. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2:123–40.
90. Russo T a, Johnson JR. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *J Infect Dis* 2000; 181:1753–4.
91. Wiles T, Kulesus R, Mulvey MA. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol* 2008; 85:11–19.
92. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Dis Mon.* 2003;49:53-70..

93. Russo TA, Stapleton A, Wenderoth S, Hooton TM, Stamm WE. Chromosomal restriction fragment length polymorphism analysis of *Escherichia coli* strains causing recurrent urinary tract infections in young women. *Journal Infect Dis* 1995; 172:440–5.
94. Orskov F, Orskov I. *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals. *Can J Microbiol* 1992; 38:699–704.
95. Alexander C, Rietschel ET. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J Endotoxin Res* 2001; 7:167–202.
96. Van Dijk WC, Verbrugh H a, Van der Tol ME, Peters R, Verhoef J. Role of *Escherichia coli* K capsular antigens during complement activation, C3 fixation, and opsonization. *Infect Immun* 1979; 25:603–9.
97. Pluschke G, Mayden J, Achtman M, Levine RP. Role of the capsule and the O antigen in resistance of O18:K1 *Escherichia coli* to complement-mediated killing. *Infect Immun* 1983; 42:907–13.
98. Allen PM, Roberts I, Boulnois GJ, Saunders JR, Hart C a. Contribution of capsular polysaccharide and surface properties to virulence of *Escherichia coli* K1. *Infect Immun* 1987; 55:2662–8.
99. Kim KJ, Elliott SJ, Di Cello F, Stins MF, Kim KS. The K1 capsule modulates trafficking of *E. coli*-containing vacuoles and enhances intracellular bacterial survival in human brain microvascular endothelial cells. *Cell Microbiol* 2003; 5:245–52.
100. Scholl D, Adhya S, Merrill C. *Escherichia coli* K1's Capsule Is a Barrier to Bacteriophage T7. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71:4872-4.
101. Rodríguez-Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Publica Mex*. 2002;44:464-75.
102. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11:142–201.
103. World Health Organization. Zoonotic non-O157 shiga toxin producing *Escherichia coli* (STEC). Report of a WHO scientific workin group meetin. 1998. Available at: http://whqlibdoc.who.int/hq/1998/WHO_CSR_APH_98.8.pdf.
104. Herzer PJ, Inouye S, Inouye M, Whittam TS. Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1990; 172:6175–81.
105. Selander, RK, DA Caugant, and TS Whittam. 1987. Genetic structure and variation in natural populations of *Escherichia coli*, p. 1625–1648. In FC Neidhardt, JL Ingraham, KB Low, B Magasanik, M Schaechter, and HE

- Umberger (ed.), *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: cellular and molecular biology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
106. Clermont O, Olier M, Hoede C, et al. Animal and human pathogenic *Escherichia coli* strains share common genetic backgrounds. *Infect Genet Evol* 2011; 11:654–662.
 107. Escobar-Páramo P, Clermont O, Blanc-Potard A-B, Bui H, Le Bouguéne C, Denamur E. A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. *Mol Biol Evol* 2004; 21:1085–94.
 108. Tenailon O, Skurnik D, Picard B, Denamur E. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8:207–17.
 109. Bingen E, Picard B, Brahim N. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains causing neonatal meningitis suggests horizontal gene transfer from a predominant pool of highly virulent B2 group. *J Infect* 1998; :642–650.
 110. Boyd EF, Hartl DL. Chromosomal regions specific to pathogenic isolates of *Escherichia coli* have a phylogenetically clustered distribution. *J Bacteriol* 1998; 180:1159–65.
 111. Johnson JR, Stell a L. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J Infect Dis* 2000; 181:261–72.
 112. Picard B, Sevali J, Gouriou S, et al. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. *Infect Immun* 1999; 67:546–53.
 113. Shames SRS, Auweter SD, Finlay BB. Co-evolution and exploitation of host cell signaling pathways by bacterial pathogens. *T Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41:380–9.
 114. Croxen M a, Finlay BB. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8:26–38.
 115. Rasko DA, Rosovitz MJ, Myers GSA, et al. The pangenome structure of *Escherichia coli*: comparative genomic analysis of *E. coli* commensal and pathogenic isolates. *J Bacteriol* 2008; 190:6881–93.
 116. Wirth T, Falush D, Lan R, et al. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Mol Microbiol* 2006; 60:1136–51.
 117. Fernández-Romero N, Romero-Gómez MP, Gómez-Gil MR, Mingorance J. Epidemic population structure of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* determined by single nucleotide polymorphism pyrosequencing. *Infect Genet Evol* 2011; 11:1655–63.

118. Clermont O, Lavollay M, Vimont S, et al. The CTX-M-15-producing *Escherichia coli* diffusing clone belongs to a highly virulent B2 phylogenetic subgroup. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:1024–8.
119. Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet* 2008; 24:133–41.
120. Lukjancenko O, Wassenaar TTM, Ussery DDW. Comparison of 61 sequenced *Escherichia coli* genomes. *Microb Ecol* 2010; 60:708–720.
121. Wang M-C, Tseng C-C, Chen C-Y, Wu J-J, Huang J-J. The role of bacterial virulence and host factors in patients with *Escherichia coli* bacteremia who have acute cholangitis or upper urinary tract infection. *Clin Infect Dis* 2002; 35:1161–6.
122. Wiselka MF. Bacterial and host factors in the pathogenesis of urinary tract infections. In: Cattell WR, ed. *Infections of the kidney and urinary tract*. New York: Oxford, 1996:8–33.
123. Edén CS, Hanson LA, Jodal U, Lindberg U, Akerlund AS. Variable adherence to normal human urinary-tract epithelial cells of *Escherichia coli* strains associated with various forms of urinary-tract infection. *Lancet* 1976; 1:490–2.
124. Keller R, Ordoñez JG, De Oliveira RR, Trabulsi LR, Baldwin TJ, Knutton S. Afa, a diffuse adherence fibrillar adhesin associated with enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2002; 70:2681–9.
125. Kline K a, Dodson KW, Caparon MG, Hultgren SJ. A tale of two pili: assembly and function of pili in bacteria. *Trends in microbiology* 2010; 18:224–32.
126. Lane MC, Mobley HLT. Role of P-fimbrial-mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in the mammalian kidney. *Kidney Int* 2007; 72:19–25.
127. Mol O, Oudega B. Molecular and structural aspects of fimbriae biosynthesis and assembly in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Rev* 1996; 19:25–52.
128. Loy C Van, Sokurenko E, Moseley S. The major structural subunits of Dr and F1845 fimbriae are adhesins. *Infect Immun* 2002; 70.
129. Leo JC, Grin I, Linke D. Type V secretion: mechanism(s) of autotransport through the bacterial outer membrane. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012; 367:1088–101.
130. Henderson IR, Navarro-Garcia F, Desvaux M, Fernandez RC, Ala'Aldeen D. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004; 68:692–744.
131. Mashburn-Warren LM, Whiteley M. Special delivery: vesicle trafficking in prokaryotes. *Mol Microbiol* 2006; 61:839–46.

132. Kuehn MJ, Kesty NC. Bacterial outer membrane vesicles and the host-pathogen interaction. *Genes Dev* 2005; 19:2645–55.
133. Barasch J, Mori K. Cell biology: iron thievery. *Nature* 2004; 432:811–3.
134. Fischbach MA, Lin H, Liu DR, Walsh CT. How pathogenic bacteria evade mammalian sabotage in the battle for iron. *Nat Chem Biol* 2006; 2:132–8.
135. Andrews SC, Robinson AK, Rodríguez-Quiñones F. Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol Rev* 2003; 27:215–37.
136. Wandersman C, Delepelaire P. Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. *Annu Rev Microbiol* 2004; 58:611–47.
137. Flo TH, Smith KD, Sato S, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 2004; 432:917–21.
138. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol Cell* 2002; 10:1033–43.
139. Hancock V, Ferrières L, Klemm P. The ferric yersiniabactin uptake receptor FyuA is required for efficient biofilm formation by urinary tract infectious *Escherichia coli* in human urine. *Microbiology* 2008; 154:167–75.
140. Falkow S. Molecular Koch's postulates applied to microbial pathogenicity. *Rev Infect Dis* 10 Suppl 2:S274–6.
141. Marschall J, Zhang L, Foxman B, Warren DK, Henderson JP. Both Host and Pathogen Factors Predispose to *Escherichia coli* Urinary-Source Bacteremia in Hospitalized Patients. *Clin Infect Dis* 2012; 54:1–7.
142. Moreno E, Planells I, Prats G, Planes AM, Moreno G, Andreu A. Comparative study of *Escherichia coli* virulence determinants in strains causing urinary tract bacteremia versus strains causing pyelonephritis and other sources of bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 53:93–9.
143. Bonacorsi S, Houdouin V, Mariani-Kurkdjian P, Mahjoub-Messai F, Bingen E. Comparative prevalence of virulence factors in *Escherichia coli* causing urinary tract infection in male infants with and without bacteremia. *J Clin Microbiol* 2006; 44:1156–8.
144. Moreno E, Prats G, Planells I, Planes AM, Pérez T, Andreu A. [Characterization of *Escherichia coli* isolates derived from phylogenetic groups A and B1 causing extraintestinal infection]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24:483–9.
145. Jauréguy F, Carbonnelle E, Bonacorsi S, et al. Host and bacterial determinants of initial severity and outcome of *Escherichia coli* sepsis. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13:854–62.

146. Johnson JR, Kuskowski MA, O'bryan TT, Colodner R, Raz R. Virulence genotype and phylogenetic origin in relation to antibiotic resistance profile among *Escherichia coli* urine sample isolates from Israeli women with acute uncomplicated cystitis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:26–31.
147. Hekker T a, Groeneveld a B, Simoons-Smit a M, De Man P, Connell H, MacLaren DM. Role of bacterial virulence factors and host factors in the outcome of *Escherichia coli* bacteraemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:312–6.
148. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
149. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987; 40:373–83.
150. From the Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *JAMA* 1993; 269:729–30.
151. McCabe WR, Jackson, McCabe W JG. Gram-negative bacteremia I. Etiology and Ecology. *Arch Intern Med* 1962; 110:847–855.
152. Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, et al. Enterobacter bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. *Annals Intern Med* 1991; 115:585–590.
153. Chow JW, Yu VL. Combination antibiotic therapy versus monotherapy for gram-negative bacteraemia: a commentary. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 11:7–12.
154. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and Simple Determination of the *Escherichia coli* Phylogenetic Group. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66: 4555-8.
155. Le Bouguenec C, Archambaud M, Labigne a. Rapid and specific detection of the *pap*, *afa*, and *sfa* adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30:1189–93.
156. Karkkainen UM., Kauppinen J, Ikaheimo R, Katila ML., Siitonen A. Rapid and specific detection of three different G adhesin classes of P-fimbriae in uropathogenic *Escherichia coli* by polymerase chain reaction. *J Microbiol Meth* 34:7.
157. Blanco M, Blanco JE, Alonso MP, et al. Detection of *pap*, *sfa* and *afa* adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains: relationship with expression of adhesins and production of toxins. *Res Microbiol* 1997; 148:745–55.

158. Yamamoto S, Terai A, Yuri K, Kurazono H, Takeda Y, Yoshida O. Detection of urovirulence factors in *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1995; 12:85–90.
159. Ananias M, Yano T. Serogroups and virulence genotypes of *Escherichia coli* isolated from patients with sepsis. *Braz J Med Biol Res* 2008; 41:877–83.
160. Nakano M, Yamamoto S, Terai A, et al. Structural and sequence diversity of the pathogenicity island of uropathogenic *Escherichia coli* which encodes the USP protein. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 205:71–6.
161. Russo T, Carlino U, Johnson J. Identification of a New Iron-Regulated Virulence Gene, *ireA*, in an Extraintestinal Pathogenic Isolate of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2001; 69:6209–6216.
162. Girardeau JP, Lalioui L, Said AMO, De Champs C, Le Bouguéne C. Extended virulence genotype of pathogenic *Escherichia coli* isolates carrying the *afa-8* operon: evidence of similarities between isolates from humans and animals with extraintestinal infections. *J Clinical Microbiol* 2003; 41:218–26.
163. Bidet P, Metais A, Mahjoub-Messai F, et al. Detection and identification by PCR of a highly virulent phylogenetic subgroup among extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* B2 strains. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73:2373–7.
164. Navarro-San Francisco C, Mora-Rillo M, Romero-Gómez MP, et al. Bacteraemia due to OXA-48-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a major clinical challenge. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:E72-9
165. Paño-Pardo JR, Ruiz-Carrascoso G, Navarro-San Francisco C, et al. Infections caused by OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary hospital in Spain in the setting of a prolonged, hospital-wide outbreak. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68:89–96.
166. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, et al. Risk factors and prognosis of nosocomial bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1726–31.
167. Meehan TP, Fine MJ, Krumholz HM, et al. Quality of care, process, and outcomes in elderly patients with pneumonia. *JAMA* 1997; 278:2080–4.
168. Houck P, Bratzler D, Nsa W. Timing of antibiotic administration and outcomes for Medicare patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *Archiv Intern Med* 2004; 164:637–44.
169. Garnacho-Montero J, Garcia-Garmendia JL, Barrero-Almodovar A, Jimenez-Jimenez FJ, Perez-Paredes C, Ortiz-Leyba C. Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. *Critical Care Med* 2003; 31:2742–51.

170. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Herrera-Melero I, et al. Mortality and morbidity attributable to inadequate empirical antimicrobial therapy in patients admitted to the ICU with sepsis: a matched cohort study. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:436–41.
171. Retamar P, Portillo MM, López-Prieto MD, et al. Impact of inadequate empirical therapy on the mortality of patients with bloodstream infections: a propensity score-based analysis. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 56:472–8.
172. Leibovici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger H, Samra Z, Pitlik SD. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *J Internal Med* 1998; 244:379–86.
173. Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Critical Care Med* 2006; 34:1589–96.
174. Kollef MH. Inadequate Antimicrobial Treatment of Infections: A Risk Factor for Hospital Mortality Among Critically Ill Patients. *Chest* 1999; 115:462–474.
175. Kumar A, Safdar N, Kethireddy S, Chateau D. A survival benefit of combination antibiotic therapy for serious infections associated with sepsis and septic shock is contingent only on the risk of death: a meta-analytic/meta-regression study. *Critical Care Med* 2010; 38:1651–64.
176. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Inter Med* 1991; 115:457–69.
177. Marty L, Jarlier V. [Surveillance of multiresistant bacteria: justification, role of the laboratory, indicators, and recent French data]. *Pathol Biol (Paris)* 1998; 46:217–26.
178. Albertini MT, Albertini MT, Benoit C, et al. Surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase (ESBLE) in Northern France: a five-year multicentre incidence study. *J Hosp Infect* 2002; 52:107–13.
179. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, et al. Community-onset bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis* 2010; 50:40–8.
180. Nicolas-Chanoine M-H, Blanco J, Leflon-Guibout V, et al. Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25:H4-ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:273–81.
181. Lavigne J-P, Vergunst AC, Goret L, et al. Virulence Potential and Genomic Mapping of the Worldwide Clone *Escherichia coli* ST131. *PLoS ONE* 2012; 7:e34294.

182. Coque TM, Novais A, Carattoli A, et al. Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15. *Emerg Infect Dis* 2008; 14:195–200.
183. Johnson JR, Porter SB, Zhanel G, Kuskowski MA, Denamur E. Virulence of *Escherichia coli* Clinical Isolates in a Murine Sepsis Model in Relation to Sequence Type ST131 Status, Fluoroquinolone Resistance, and Virulence Genotype. *Infect Immun* 2012; 80:1554–62.
184. Paterson DL, Ko W-C, Von Gottberg A, et al. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial Infections. *Ann Intern Med* 2004; 140:26–32.
185. Rodríguez-Baño J, Pascual A, Gálvez J, et al. [*Acinetobacter baumannii* bacteremia: clinical and prognostic features]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21:242–7.
186. Miguel Cisneros-Herreros J, Cobo-Reinoso J, Pujol-Rojo M, Rodríguez-Baño J, Salavert-Lletí M. Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. Guías de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007; 25:111–130.
187. Lerm M, Selzer J, Hoffmeyer a, Rapp UR, Aktories K, Schmidt G. Deamidation of Cdc42 and Rac by *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor 1: activation of c-Jun N-terminal kinase in HeLa cells. *Infect Immun* 1999; 67:496–503.
188. Lemonnier M, Landraud L, Lemichez E. Rho GTPase-activating bacterial toxins: from bacterial virulence regulation to eukaryotic cell biology. *FEMS Microbiol Rev* 2007; 31:515–34.
189. Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology. *Nature* 2002; 420:629–35.
190. Duriez P, Clermont O, Bonacorsi S. Commensal *Escherichia coli* isolates are phylogenetically distributed among geographically distinct human populations. *Microbiology* 2001; :1671–1676.
191. Ruiz J, Simon K, Horcajada J. Differences in virulence factors among clinical isolates of *Escherichia coli* causing cystitis and pyelonephritis in women and prostatitis in men. *J Clin Microbiol* 2002; 40:4445–9.
192. Johnson JR, Delavari P, Kuskowski M, Stell a L. Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 2001; 183:78–88.
193. Johnson JR, Kuskowski M a, O'Bryan TT, Maslow JN. Epidemiological correlates of virulence genotype and phylogenetic background among

- Escherichia coli blood isolates from adults with diverse-source bacteremia. *J Infect Dis* 2002; 185:1439–47.
194. Johnson JR, O'Bryan TT, Kuskowski M, Maslow JN. Ongoing horizontal and vertical transmission of virulence genes and papA alleles among Escherichia coli blood isolates from patients with diverse-source bacteremia. *Infect Immun* 2001; 69:5363–74.
 195. Bingen-Bidois M, Clermont O, Bonacorsi S, et al. Phylogenetic analysis and prevalence of urosepsis strains of Escherichia coli bearing pathogenicity island-like domains. *Infect Immun* 2002; 70:3216–26.
 196. Lavigne J-P, Blanc-Potard A-B, Bourg G, et al. Virulence genotype and nematode-killing properties of extra-intestinal Escherichia coli producing CTX-M beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12:1199–206.
 197. Jauregui F, Landraud L, Passet V, et al. Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic Escherichia coli strains. *BMC Genomics* 2008; 9:560.
 198. Rijavec M, Müller-Premru M, Zakotnik B, Zgur-Bertok D. Virulence factors and biofilm production among Escherichia coli strains causing bacteraemia of urinary tract origin. *J Med Microbiol* 2008; 57:1329–34.
 199. Cooke NM, Smith SG, Kelleher M, Rogers TR. Major differences exist in frequencies of virulence factors and multidrug resistance between community and nosocomial Escherichia coli bloodstream isolates. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1099–104.
 200. Rodríguez-Baño J, Mingorance J, Fernández-Romero N, Serrano L, López-Cerero L, Pascual A. Virulence Profiles of Bacteremic Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Escherichia coli: Association with Epidemiological and Clinical Features. *PLoS ONE* 2012; 7:e44238.
 201. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:657–86.
 202. Jacoby G, Bush K. β -Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes. 2013. Available at: <https://www.lahey.org/studies/>. Accessed 14 March 2013.
 203. Pleiss J. The LACTamase Engeneering Database. 2009. Available at: <http://www.laced.uni-stuttgart.de/>. Accessed 14 March 2013.
 204. Datta N, Kontomichalou P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* 1965; 208:239–41.
 205. Bader MS. Staphylococcus aureus bacteremia in older adults: predictors of 7-day mortality and infection with a methicillin-resistant strain. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:1219–25.

206. Soriano A, Martínez JA, Mensa J, et al. Pathogenic significance of methicillin resistance for patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2000; 30:368–73.
207. Romero-Vivas J, Rubio M, Fernandez C, Picazo JJ. Mortality associated with nosocomial bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 1995; 21:1417–23.
208. Endimiani A, Luzzaro F, Pini B, Amicosante G, Rossolini GM, Toniolo AQ. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to expression of the PER-1 extended-spectrum beta-lactamase. *BMC Infect Dis* 2006; 6:52.
209. Cisneros JM, Reyes MJ, Pachón J, et al. Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. *Clin Infect Dis* 1996; 22:1026–32.
210. Gross PA, Stein MR, Van Antwerpen C, et al. Comparison of severity of illness indicators in an intensive care unit. *Arch Intern Med* 1991; 151:2201–5.
211. Fernandez R, Baigorri F, Navarro G, Artigas A. A modified McCabe score for stratification of patients after intensive care unit discharge: the Sabadell score. *Critical care (London, England)* 2006; 10:R179.
212. Cosgrove SE. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clin Infect Dis* 2006; 42 Suppl 2:S82–9.
213. Sausville EA, Longo DL. Principles of Cancer Treatment: Introduction. En: Longo, D. L., Kasper, D. L., Jameson, J. L., & Fauci, A. S. Editores. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18.a ed. México: Interamericana- McGraw Hill, 2012.
214. Ford B, Rêgo AT, Ragan TJ, et al. Structural homology between the C-terminal domain of the PapC usher and its plug. *J Bacteriol* 2010; 192:1824–31.
215. Foxman B, Zhang L, Palin K, Tallman P, Marrs CF. Bacterial virulence characteristics of *Escherichia coli* isolates from first-time urinary tract infection. *J Infect dis* 1995; 171:1514–21.
216. O'HanleyP, Denich K, Schmidt MA. Immunogenic pili presenting foreign peptides, their production and use. United States Patent Application: 0020142008. Available at: <http://xurl.es/z91w3>.

ANEXOS

8. Anexos

ANEXO A: Comunicaciones a congresos

- Virulence Factor Gene *cnf* and β -lactamase Gene TEM are Associated with an Increased Severity of *Escherichia coli* Blood Stream Infections.
M Mora-Rillo, N Fernández-Romero, C Navarro-San Francisco, MP Romero-Gómez, JR Paño-Pardo, JR Arribas-López, J Mingorance.
Presentado como Comunicación Poster (D-1452) en la 52^a Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) celebrada en San Francisco, del 9 al 12 de Septiembre de 2012.
- The presence of the *fyuA* and P fimbria genes are related with mortality in *Escherichia coli* Blood Stream Infections.
M Mora-Rillo, N Fernández-Romero, C Navarro-San Francisco, MP Romero-Gómez., JR Paño-Pardo, JR Arribas-López, J Mingorance.
Presentado como Comunicación Oral (Abstract Nr. 1019) en el 23rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), celebrado en Berlin, del 27 al 30 de Abril de 2013.

ANEXO B: Informe Comité de Ética

Hospital Universitario La Paz

 Comunidad de Madrid**INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

Don Antonio Gil Aguado, Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz

CERTIFICA

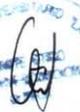
Que este Comité ha evaluado la propuesta del Dr. Jesús Mingorance Cruz del Servicio de Microbiología del Hospital La Paz para que se realice el proyecto de investigación titulado **“IMPLICACIÓN DE LA ISLA DE PATOGENICIDAD U_{sp} DE ESCHERICHIA COLI EN EL DESARROLLO DE SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA: EPIDEMIOLOGÍA Y MECANISMOS MOLECULARES”**, código HULP: PI-954

y considera que teniendo en cuenta la respuesta a las aclaraciones solicitadas:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad del investigador y los medios de disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado y no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité acepta que dicho proyecto de investigación sea realizado en el Hospital Universitario La Paz por el Dr. Jesús Mingorance Cruz del Servicio de Microbiología del Hospital La Paz como investigador principal.

Lo que firmo en Madrid a 7 de Junio de 2010

Firmado: 
Don Antonio Gil Aguado

ANEXO C: Hoja de Recogida de datos

Hoja de Recogida de datos, página 1

Implicación de USP de E Coli en SRIS		J Mingorance										
HOJA RECOGIDA DE DATOS		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="padding: 2px;">ID Paciente</td></tr> <tr><td style="padding: 2px;">ID Muestra</td></tr> <tr><td style="padding: 2px;">Fecha muestra</td></tr> </table>		ID Paciente	ID Muestra	Fecha muestra						
ID Paciente												
ID Muestra												
Fecha muestra												
Datos Demográficos												
F nacimiento	Sexo H/M	F Ingreso	Sº de Ingreso									
Antecedentes personales												
Antecedentes/Comorbilidad												
<input type="checkbox"/> IAM	Hepatopatía crónica											
<input type="checkbox"/> ICC	Hepatopatía moderada/grave											
<input type="checkbox"/> Arteriopatía Periférica	<input type="checkbox"/> Tumor	Tto oncológico activo										
<input type="checkbox"/> Hemiplejía	<input type="checkbox"/> Leucemia											
<input type="checkbox"/> Enfermedad cerebrovascular	<input type="checkbox"/> Linfoma	<input type="checkbox"/> Sí										
<input type="checkbox"/> Demencia	<input type="checkbox"/> Cáncer	<input type="checkbox"/> No										
<input type="checkbox"/> Enfermedad Pulmonar Crónica	<input type="checkbox"/> SIDA											
<input type="checkbox"/> Enfermedad Tejido conectivo	<input type="checkbox"/> Transplante de órgano sólido											
<input type="checkbox"/> Úlceras	<input type="checkbox"/> Transplante hematopoyético											
<input type="checkbox"/> Insuficiencia renal moderada/grave	<input type="checkbox"/> Corticoides (dosis > 1mg/kg x > 1mes)											
<input type="checkbox"/> Diabetes	<input type="checkbox"/> Ttos Biológicos											
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Con complicaciones	<input type="checkbox"/> Otros inmunodepresores											
<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"><u>Trasplante renal</u> si /no</td> <td style="width: 33%;">Fecha trasplante</td> <td style="width: 33%;">Tto.AB profiláctico si/no</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Rechazo Agudo si/no</td> <td>Rechazo: Intersticial /Humoral</td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="2">CMV: No / Enfermedad / replicacion</td> </tr> </table>				<u>Trasplante renal</u> si /no	Fecha trasplante	Tto.AB profiláctico si/no		Rechazo Agudo si/no	Rechazo: Intersticial /Humoral		CMV: No / Enfermedad / replicacion	
<u>Trasplante renal</u> si /no	Fecha trasplante	Tto.AB profiláctico si/no										
	Rechazo Agudo si/no	Rechazo: Intersticial /Humoral										
	CMV: No / Enfermedad / replicacion											
<u>Tratamientos inmunosupresores en trasplante renal</u>												
<u>Historico</u>												
Corticoides si/no	Ciclosporina si/no	Micofenolato si/no										
Timoglobulina si/no	OKT3 si/no	Basiliximab si/no										
Rituximab si/no	Tacrolimus si/no	M-Tor si/no										
Plasmaferesis si/no	Imnumoglobulina iv si/no											
<u>Actual</u>												
Corticoides si/no	Ciclosporina si/no	Micofenolato si/no										
Timoglobulina si/no	OKT3 si/no	Basiliximab si/no										
Rituximab si/no	Tacrolimus si/no	M-Tor si/no										
Plasmaferesis si/no	Imnumoglobulina iv si/no											
Bacteriemia												
<u>Factores de riesgo</u>												
<ul style="list-style-type: none"> - Urinario si/no <ul style="list-style-type: none"> ▪ Alteración primaria o secundaria de la vía urinaria si/no ▪ Catéteres urinarios si/no. Tipo: SV, Pigtail, Otros ▪ ITU si/no Clínica si/no Analítica/microbiológica si/no - Digestivo si/no <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cuadro abdominal agudo en días previos si/no ▪ Diverticulosis conocida si/no - Otros - Desconocido 												
<u>Lugar de adquisición</u>												
Nosocomial	Relacionada con la asistencia sanitaria	Comunitaria										

Hoja de recogida de datos, página 2

Implicación de USP de E Coli en SRIS		J Mingorance	
Exploración física			
TAS	TAD	Evento hipotensivo si/no	
FC	FR	Temperatura	
GCS	Status mental: alerta / desorientado / estuporoso / comatoso		
Evolución			
Ingreso en UVI si/no		Ventilación mecanica si/no	
Necesidad de aminas vasoactivas si/no			
Necesidad de diálisis si/no			
Datos analíticos			
Leucocitos	Neutrofilos	Hematocrito	PCR
Creat	HCO3- venoso	Na	K
Tratamiento			
Fecha/hora Bacteriemia		Fecha/hora inicio tto empírico	
Empírico: Fecha inicio		Principio activo	Vía: iv/oral
Adecuado si/no			
Dirigido: Fecha de inicio		Principio activo	Vía: iv/oral
Evolución al alta			
Fecha de alta hospitalaria			
Recaída clinica			
Fecha de Exitus		Causa de Exitus	
Fecha de reingreso		Motivo Reingreso	

ANEXO D: Consentimiento informado

Consentimiento informado, página 1

APÉNDICE 5: Hoja de información al paciente y consentimiento informado

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

TÍTULO DEL ESTUDIO: Implicación de la isla de patogenicidad Usp de Escherichia coli en el desarrollo de síndrome de respuesta inmune sistémica: epidemiología y mecanismos moleculares

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Dr. Jesus Mingorance, Servicio de Microbiología.

CENTRO: Hospital Universitario La Paz.

INTRODUCCIÓN

Nos dirigimos a Usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz.

Lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de su lectura.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Este estudio esta dirigido a conocer si existe alguna característica molecular en la bacteria Escherichia coli que haga que las infecciones producidas por la misma sean mas graves. Este estudio se realizará sobre la bacteria aislada en su sangre causante de la infección que le ha hecho ingresar, sin que precise de otras extracciones de sangre distintas de las necesarias para su cuidado y tratamiento.

Es importante destacar que NO se trata de un ensayo clínico, sino que es un estudio observacional no intervencionista, es decir, el hecho de participar en este estudio no implicará recibir tratamientos ni pruebas adicionales a las que se recibirían en caso de no estar en el estudio. Por tanto, la participación en el estudio no implica ningún inconveniente o riesgo adicional.

CONFIDENCIALIDAD

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código cumpliendo todos los requisitos de la ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal (BOE nº 298 de 14-12-1999).

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento

Consentimiento Informado, página 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio: Implicación de la isla de patogenicidad Usp de Escherichia coli en el desarrollo de síndrome de respuesta inmune sistémica: epidemiología y mecanismos moleculares

Yo (nombre y apellidos)

.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio

He hablado con (nombre del investigador).....

Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio, cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Accedo a que las muestras de sangre obtenidas puedan ser utilizadas en el futuro para nuevos análisis relacionados con la enfermedad.

Firma del paciente:

Firma del investigador:

Nombre:

Nombre:

Fecha:

Fecha:

TUTOR LEGAL O FAMILIAR

Sé que el paciente D.....

- Delega su responsabilidad en mi
- No es competente para decidir en este momento
- Desea libremente, ante testigos, compartir conmigo su decisión, sin menoscabo de la confidencialidad que el caso requiera.

Tutor legal o familiar (nombre y dos apellidos)

Firmado

DNI.....

Fecha.....

