

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**MULTIRRESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS Escherichia coli  
PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO  
(BLEE) AISLADOS EN UROCULTIVO DEL HOSPITAL REGIONAL “MANUEL  
NUÑEZ BUTRÓN” PUNO – 2012**

**TESIS**

PRESENTADA POR LA BACHILLER:

**LIZBETH JENNIFER LEÓN RODRIGUEZ**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PUNO – PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

**TESIS:**

**MULTIRRESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS *Escherichia coli*  
PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)  
AISLADOS EN UROCULTIVO DEL HOSPITAL REGIONAL "MANUEL NUÑEZ  
BUTRÓN" PUNO – 2012**

PRESENTADA POR LA BACHILLER  
**LIZBETH JENNIFER LEÓN RODRIGUEZ**  
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

M. Sc. Dante Choquehuanca Pandas

PRIMER MIEMBRO

M. Sc. Vicki Cristina Gonzales Alcos

SEGUNDO MIEMBRO

M. Sc. Juan José Pauro Roque

DIRECTOR DE TESIS

Prof. Buenaventura Carpio Vásquez

ASESOR DE TESIS

Dr. Francisco Armando Lajo Soto

ASESOR DE TESIS

M. Sc. Maritza Miriam Mayta Barrios

AREA: Microbiología y laboratorio clínico  
TEMA: Microbiología médica

## DEDICATORIA

A mis amados padres Francisco y Carmen por el amor que me brindan, por su inaleanzable apoyo para la culminación de mi carrera.

Con amor a mis hermanos Alexander y Sharon, por fomentar en mí el deseo de superación

Con gratitud a una persona muy especial por haber sido una de mis fortalezas.

Mis reconocimientos más sinceros a mis amigos y amigas que siempre me alentaron y están conmigo.

Lizbeth Jennifer



## AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional del Altiplano, mi alma mater, a la Facultad de Ciencias Biológicas, a la plana docente y administrativo quienes con su experiencia y conocimientos supieron orientar mi formación profesional.

Al Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de Puno, por permitirme realizar la ejecución de la presente investigación.

Especial agradecimiento al Prof. Buenaventura Carpio Vásquez, por haberme brindado sus conocimientos y experiencias.

A los miembros del jurado: Blgo. M.Sc. Dante Choquehuanca Panclas, Blgo. M.Sc. Vicky Cristina Gonzales Alcos y el Blgo. M.Sc. Juan José Pauro Roque, por haberme contribuido con su valiosa experiencia en el enriquecimiento científico de este trabajo de tesis.

Al Dr. Francisco Armando Lajo Soto y a la Blga. M.Sc. Maritza Miriam Mayta Barrios, por su asesoramiento y orientación en la elaboración en el presente trabajo de investigación.

Lizbeth Jennifer



## INDICE GENERAL

### RESUMEN

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
2.1 Antecedentes de la investigación.....	¡Error! Marcador no definido.
2.2 Marco teórico.....	¡Error! Marcador no definido.
2.2 Marco conceptual.....	¡Error! Marcador no definido.
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
3.1 Ámbito de estudio.....	¡Error! Marcador no definido.
3.2 Unidad de análisis.....	¡Error! Marcador no definido.
3.3 Diseño y tipo de estudio.....	¡Error! Marcador no definido.
3.4 Población y muestra.....	¡Error! Marcador no definido.
3.5 Procedimiento, técnicas e instrumentos de recolección de datos.	¡Error! Marcador no definido.
3.6 Método estadístico.....	¡Error! Marcador no definido.
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
4.1 Resistencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) a antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos.....	¡Error! Marcador no definido.
4.2 Determinación de la resistencia antimicrobiana de cepas <i>Escherichia coli</i> productora de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) procedente de muestras de servicio del hospital y consulta externa.....	¡Error! Marcador no definido.
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>VII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>ANEXOS</b>	

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Uropatógenos aislados en pacientes que asisten al Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de la ciudad de Puno.....	36
<b>Cuadro 2.</b> Resistencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos.....	37
<b>Cuadro 3.</b> Resistencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos.....	39
<b>Cuadro 4.</b> Presencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes que asisten al Hospital Regional MNB – Puno.....	41
<b>Cuadro 5.</b> Resistencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos según ambiente.....	43
<b>Cuadro 6.</b> Resistencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos según ambiente.....	44



### INDICE DE FIGURAS Y GRAFICOS

<b>Figura 1.</b> Estructura de la cubierta celular de bacterias Gram – negativas.....	20
<b>Figura 2.</b> Estructura antigénica de bacterias Gram – negativas.....	21
<b>Figura 3.</b> Esquema de las vías de acceso de la infección al riñón.....	22
<b>Gráfico 1.</b> Uropatógenos aislados en pacientes que asisten al Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de la ciudad de Puno.....	36
<b>Gráfico 2.</b> Resistencia porcentual de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos.....	38
<b>Gráfico 3.</b> Resistencia porcentual de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos.....	40
<b>Gráfico 4.</b> Presencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes que asisten al Hospital Regional MNB – Puno.....	42
<b>Gráfico 5.</b> Resistencia (%) de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos según ambiente.....	44
<b>Gráfico 6.</b> Resistencia (%) de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos según ambiente.....	45



## RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio clínico del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de Puno. Durante los meses de setiembre 2012 y enero del 2013. Los objetivos fueron: a) Determinar la resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) a antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos, a través de método de Kirby Bauer en pacientes que asisten al Hospital Regional "Manuel Núñez Butrón" Puno – 2012 y b) determinar la resistencia antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) procedente de muestras de servicios del hospital y consultorio externo. La metodología utilizada fue: la técnica del urocultivo y para la detección fenotípica de producción de betalactamasas de espectro extendido a través de la prueba de difusión de disco combinado y por el método de Kirby Bauer para la multiresistencia a los antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos; el análisis estadístico fue descriptivo y se aplicaron pruebas no paramétrica de ji-cuadrado. Los resultados confirmaron a 63 pacientes con infección urinaria, donde se demostró que *Escherichia coli* es el uropatógeno Gramnegativo más frecuentemente aislado en un 66,7% seguido de otras especies. La producción de betalactamasas de espectro extendido en un 61,9%; más del 50% de las cepas producen esta enzima. La multiresistencia del uropatógeno *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido (BLEEs) los antimicrobianos betalactámicos muestran más resistencia frente a los no betalactámicos con una significancia de ( $p > 0,05$ ). Se comprobó que superan más del 50% de resistencia de antimicrobianos betalactámicos tal como cefalotina con un 92,31% de resistencia, con excepción del imipenem que tuvo 0% de resistencia. En cuanto a los no betalactámicos resultado con más resistencia a trimetoprim-sxt con un 88,46%, en cambio a la fosfomicina, nitrofurantoina y los aminoglucósidos presentaron bajo nivel de resistencia. Las muestras provenientes de servicios de hospitalización son más resistentes que las provenientes de consultorio externo con una significancia de ( $p > 0,05$ ). En conclusión el uropatógeno *Escherichia coli* productora de BLEEs presentan elevadas resistencias a los betalactámicos excepto a imipenem frente a los no betalactámicos; y las muestras procedentes de servicios de hospitalización muestran más resistencia frente a muestras de consultorio externo.

**Palabras clave:** Multiresistencia, antimicrobianos, betalactamasas, urocultivo, infección urinaria, betalactámicos.

## I. INTRODUCCIÓN

La aparición de enterobacterias multirresistentes se ha incrementado en los últimos años gracias a la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) lo cual es un problema emergente en la comunidad y un alto porcentaje de estos aislamientos son causa de infección no complicada del tracto urinario, y se registra, además, una mayor morbilidad y mortalidad en pacientes con infecciones por estas bacterias (Baquero *et al.*, 1998). La presencia de uropatógenos resistentes se asocia a problemas de fracaso en el tratamiento de la infección del tracto urinaria (ITU).

En el mundo existen diferentes estudios que abordan el comportamiento de las infecciones de vías urinarias así como su patrón de resistencia. Al respecto hay reportes que reflejan un incremento progresivo en la resistencia por parte de las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad causadas por *Escherichia coli* (Kaufman, 2002 - 2004), es así que el reporte de producción de BLEEs por uropatógenos en EE.UU. o Europa ha aumentado en los últimos años; Latinoamérica, ocupa el primer lugar con 45% de los aislamientos de bacilos Gram negativos productores de BLEEs, según datos del proyecto SENTRY (Winokur *et al.*, 2001). En el año 2011 se reportó en el MINSA – Puno a nivel provincial, 175 pacientes con urocultivo positivo a infección urinaria de un total de 385 pacientes con diagnóstico presuntivo, además se ha observado elevadas resistencias frente a los antimicrobianos, sin embargo no se tenía reportes que la resistencia este asociado a la producción de BLEEs.

Es así que en el estudio, para determinar la multirresistencia antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) en pacientes con infecciones urinarias, se realizó la confirmación fenotípica de BLEEs, para posteriormente determinar por el antibiograma la resistencia. Esta bacteria puede ser clínicamente resistente al tratamiento con penicilinas, cefalosporinas y aztreonam a pesar de la sensibilidad *in vitro* lo que implica fracasos terapéuticos asociados a una elevada morbi - mortalidad en pacientes con infección urinaria.

En nuestro medio se practica el tratamiento paleativo sin antibiograma y no utiliza en la rutina la producción de BLEEs por uropatógenos en infecciones del tracto urinario para un tratamiento seguro en pacientes que asisten al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” de Puno, razón por la cual se planteó la siguiente investigación, determinando la siguiente interrogante general.

¿Cuál es la multirresistencia de cepas de *Escherichia coli* uropatógeno productora de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) aislados de urocultivo en el Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” de Puno - 2012?

En tal sentido los objetivos planteados fueron:

### **Objetivos específicos**

Determinar la resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) a antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos, a través de método de Kirby Bauer en pacientes que asisten al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” Puno – 2012.

Determinar la resistencia antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) procedente de muestras de los servicios de hospitalización y consultorio externo.



## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Antecedentes de la investigación

Chambi (2009), al estudiar la resistencia de uropatógenos Gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido en pacientes que asisten al hospital EsSalud de Juliaca, Perú, se determinó 199 uropatógenos entre *Escherichia coli* (93,96%), *Klebsiella* spp. (4,53%) y *Proteus* spp. (1,51%) de los cuales el 30,2% (60/199) de cepas fueron productoras de betalactamasas de espectro extendido. *Escherichia coli* presentó el 28,9% (54/187), *Klebsiella* spp. el 44,4% (4/9) y *Proteus* spp. el 66,7% (2/3); las resistencias de los uropatógenos en *Escherichia coli* productor de esta enzima frente a ampicilina fue del 85,2%, piperacilina del 83,3%, cefalotina del 64,8%, cefazolina del 66,7%, cefuroxima del 63,0%, ceftriaxona del 55,6%, ceftazidima del 50,0%, cefotaxima del 57,7%, cefepime del 50,0%, aztreonam del 48,2% y 100% de sensibilidad a imipenem.

Peroso *et al.* (2009), al realizar la detección de betalactamasas de espectro extendido en las cepas de la familia *Enterobacteriaceae*, en 3883 cepas estudiadas en el Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo, Venezuela, confirmaron la producción de BLEEs en 951 (24,49%) cepas, la producción de BLEEs en *Klebsiella oxytoca* fue de 43,33%, *K. pneumoniae* (40,10%), *Escherichia coli* (18,34%), *Proteus mirabilis* (6,86%) y *P. vulgaris* (8,82%).

González *et al.* (2008), en su estudio de infecciones del tracto urinario en el hospital general Cayetano Heredia - Lima entre enero – junio, analizaron, de 1249 urocultivos positivos, habiéndose aislado en pacientes no hospitalizados; *Escherichia coli* 76% seguido de *Klebsiella* spp. 5% y *Citrobacter* sp. 3%. *Escherichia coli* fue sensible a amikacina, nitrofurantoína, ceftriaxona y ciprofloxacino en 93,4%, 88,6%, 78% y 44,5% respectivamente. En pacientes hospitalizados la frecuencia de cepas aisladas fue; *Escherichia coli* 49% seguido de *Enterococcus* spp. 11,39% y *Klebsiella* spp. 8,42% siendo *Escherichia coli* sensible a amikacina, nitrofurantoína, ceftriaxona y ciprofloxacino en 88,89%, 75,26%, 43,88% y 26,04%, respectivamente, mientras que Nitrofurantoína obtuvo resistencias bajas en hospitalizados con un 16,49% y en no hospitalizados 6,48% para *Escherichia coli*.

Choquehuanca (2008), en su estudio resistencia de uropatógenos Gram negativos a las quinolonas en pacientes que asisten al hospital EsSalud - Juliaca se evaluaron 68 pacientes mayores de 16 años, *Escherichia coli* presentó el 86,21% de resistencia al

ácido nalidíxico, el 91,7% a norfloxacino, el 96,15% a ciprofloxacino, el 93,9% a levofloxacino y el 94,7% a moxifloxacino.

Caro *et al.* (2007), en su estudio de multirresistencia antibiótica de *Escherichia coli* en urocultivos, mencionan que en 5247 aislamientos de *Escherichia coli* procedentes de pacientes hospitalarios (37,9%) y extrahospitalarios (62,1%), la sensibilidad antibiótica de los aislamientos realizados del 2000-2005, Los antibióticos con menor sensibilidad fueron ampicilina (con un 43%), ácido nalidíxico (con un 63,8%), trimetoprim - sulfametoxazol (con un 69,3%) y ciprofloxacino (con un 76,6%). El resto de los antibióticos estudiados presentó sensibilidades superiores al 80%. En cuanto a la diferencia de sensibilidad a los antibióticos no betalactámicos entre aislamientos productores y no productores de BLEE, se obtuvieron los siguientes porcentajes de sensibilidad: ciprofloxacino, el 20,9% y el 77,8%; gentamicina, el 84,5 y el 90,6%; nitrofurantoina, el 83,6 y el 90,7%; fosfomicina, el 89,1 y el 94,2%, y trimetoprim-sulfametoxazol, el 44,5 y el 69,8%, respectivamente, con diferencias estadísticamente significativas para todos ellos excepto para gentamicina, nitrofurantoina y fosfomicina. Además, de las 110 cepas productoras de BLEE, un 42,7% presentaba resistencia combinada a ciprofloxacino y trimetoprim - sulfametoxazol, diferencia estadísticamente significativa respecto al 13,7% de resistencia encontrada en cepas no productoras de esta enzima.

Peroso *et al.* (2007), en su trabajo denominado caracterización molecular y detección de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* aisladas de la unidad de cuidados intensivos del Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo, Venezuela, determinaron que el 39,0% de cepas *E. coli* y el 52,5% de cepas *K. pneumoniae* fueron BLEEs positivos. En cepas de *E. coli*, se observan altos niveles de resistencia a penicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación, tercera generación, cuarta generación y monobactam en cuanto a cefotaxima y cefpodoxima presentaron 100% de resistencia, ceftriaxona 66,7%, ceftazidima 50,0%, cefepime 20,0% y aztreonam 50,0%.

Murillo *et al.* (2006), en la investigación sobre el uso de antibióticos en infecciones de vías urinarias en una unidad de primer nivel de atención en salud Bogotá, Colombia, mencionan que de 470 urocultivos analizados entre el 1 de julio del 2002 al 30 de junio del 2003, fueron positivos 296 (63%) y negativos 147 (37%), los uropatógenos aislados fueron: *Escherichia coli* (88.9 %), *Proteus* spp. (5,1%), *Klebsiella* spp. (3,7%), *Enterobacter* Spp. (1%), *Citrobacter* spp. (1%). La resistencia de *Escherichia coli* a norfloxacina fue de 21,9% y a ciprofloxacina fue de 17.1%, ampicilina (62,2%), amoxicilina (61,1%), ampicilina sulbactam (12,5%) y amoxicilina-ácido clavulánico (8,7%);

para otros uropatogenos aislados, amoxicilina presento tasas entre 50 y 100% de resistencia, en cefalotina (24,5%) de resistencia. Se observaron rangos muy amplios de susceptibilidad.

Rosas H. (2006) al investigar la presencia de *Escherichia coli* en infecciones urinarias, las que fueron aisladas a partir de muestras de orina. Se procesaron un total de 604, procedentes de pacientes de todas las edades atendidos en el instituto de investigación y servicios de la Paz, durante los años 2004. En 723 muestras aisladas del 100% de las infecciones urinarias el 82,6% eran causados por *Escherichia coli*.

Morales *et al.* (2005), al determinar la presencia de Betalactamasas de Espectro Extendido en dos Hospitales Nacionales de Lima "Guillermo Almenara" y "Edgardo Rebagliati encontraron 137 cepas de *Escherichia coli* y 18 cepas de *Klebsiella pneumoniae*; *E. coli* presentó resistencia a ampicilina en un 80,3%, cefazolina 31,4%, cefuroxima 27,7%, cefotaxima 12,4%, ceftazidima 13,9%, ceftriaxona 10,9%, aztreonam 19%, ceftaxima 6,6% e imipenem 0%. Doce cepas de (10,2%) fueron positivas a la prueba de conformación fenotípica de BLEEs; en total 4/37 cepas de *E. coli* (2,9%) y 8/18 cepas de *K. pneumoniae* (44,4%).

Muzachiodi & Ferrero. (2005), al estudiar la incidencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido, en la ciudad de Corrientes, Argentina, indican que el porcentaje de enterobacterias productoras de BLEEs fue del 31,1% del total de las enterobacterias, *Proteus spp.* con un 39,8% fue el microorganismo con más frecuencia se encontró la producción de BLEEs y en segundo lugar *E. coli* con un 19,4% a nivel hospitalario, la mayor frecuencia de estas cepas fueron en orinas en un 41,8%. Además la resistencia de las cepas BLEEs fue a gentamicina en un 86,7%, a ciprofloxacino 80,6% y a trimetoprim sulfametoxazol 78,6%, demostrando la multiresistencia que las acompaña. Todas las cepas BLEEs positivas fueron sensibles a imipenem y meropenem.

Martínez *et al.* (2005), al estudiar la prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería en Colombia, 14/60 aislamientos producían BLEEs (23,3%), 11/30 de *K. pneumoniae* (36,6%) y 3/30 de *E. coli* (10%). Para *E. coli* la resistencia a cefepime y ceftazidima, cefpodoxima, ceftriaxona, cefotaxima y aztreonam fue del 10% (3/30); el perfil fenotípico de resistencia mostró 100% de resistencia a cefalosporinas de tercera generación y aztreonam, reportaron 100% de sensibilidad a imipenem y meropenem. La producción de BLEEs mostró niveles de corresponsión elevados frente a otros antibióticos como aminoglucósidos, fluoroquinolonas y trimetoprim/sulfametoxazol.

Lujan *et al.* (2002), al estudiar la frecuencia y susceptibilidad de patógenos aislados en infección del tracto urinario realizado en una clínica local Lima - Perú; entre enero a marzo de 2002 indican que de un total de 479 urocultivos fueron positivos 105 ( $p > 0.05$ ). Los microorganismos recuperados fueron *Escherichia coli* (69,5%), *Streptococcus* No Hemolíticos (9,5%), *Proteus mirabilis* (6,7%), *Staphylococcus aureus* (4,8%) y *Staphylococcus* Coagulasa Negativos (4,8%). En la prueba de susceptibilidad antimicrobiana, los antibióticos ampicilina-sulbactam y amikacina mostraron mayor actividad (80-100%) contra los bacilos entéricos Gramnegativos y los cocos Gram positivos. El ácido nalidíxico y la nitrofurantoína mostraron actividad variable (32,8 - 55,4%) para *E. coli*, ceftriaxona presentó buena actividad (90%) contra esta bacteria.



## 2.2 Marco teórico

### 2.2.1 Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico. La resistencia bacteriana obliga al desarrollo y utilización de nuevos antibacterianos, que son más costosos y a veces más tóxicos que los empleados habitualmente. Cuando se lanza al mercado un fármaco antibacteriano, se define el espectro de microorganismos sobre los cuales es eficaz, pero luego este patrón va cambiando a medida que la droga se utiliza clínicamente, llegando en algunos casos a caer en el desuso (Avellaneda & Pecho, 2003).

#### Multirresistencia de uropatógenos

Cuando una cepa bacteriana es resistente a varios antimicrobianos o tipos de antimicrobianos distintos se le considera multirresistente. El empleo excesivo de antimicrobianos, sobre todo en los pacientes hospitalizados, conduce a la supresión de los microorganismos susceptibles a los fármacos en la flora del intestino y a favorecer la persistencia y el crecimiento de las bacterias resistentes, presión selectiva. Los microorganismos que pueden causar infección en el tracto urinario no se ven sometidos solo a presión cuando se trata este tipo de enfermedad, sino que los antibióticos empleados en otras enfermedades, como las infecciones agudas del tracto respiratorio superior, o empleo de antibióticos de amplio espectro, también intervienen sobre la resistencia antibiótica de los uropatógenos ya que casi siempre de la flora fecal, y está sometida a presión antibiótica cuando se trata un proceso infeccioso de cualquier localización (Brooks *et al.*, 2005).

#### Antimicrobianos usados en el tratamiento de infecciones del tracto urinario

La posibilidad de tratar las infecciones de vías urinarias con fármacos aumenta gracias a la capacidad singular de los riñones con funcionamiento normal de concentrar diversos antibacterianos en la orina. El tratamiento incluye la selección correcta de los fármacos que puedan llegar de manera satisfactoria a la orina. Entre los antimicrobianos usados para las infecciones urinarias podemos destacar los siguientes (Jawetz *et al.*, 1995):

#### Antimicrobianos betalactámicos

**1) Penicilinas:** compuestas por un anillo  $\beta$ -lactámico unido a un anillo de tiazolidina con una cadena lateral que les confiere diferentes características. Al manipular la cadena, se logra modificar a los compuestos y obtener diferentes clases de penicilinas. Algunas

bacterias poseen enzimas llamadas  $\beta$ -lactamasas, que alteran el anillo  $\beta$ -lactámico logran inactivar el medicamento. Estos fármacos actúan alterando la síntesis de pared bacteriana, inhibiendo enzimas que crean uniones peptídicas como: transpeptidasa, carboxipeptidasa, endopeptidasa; conocidas como proteínas unidoras de penicilinas (PBP) y activando el sistema autolítico endógeno. Tienen efecto principalmente contra bacterias Gram positivo. Existen penicilinas naturales, semisintéticas resistentes a las penicilinasas y de espectro extendido (ABC medicus, 2001 & Cordies *et al.*, 1998).

**2) Cefalosporinas:** se componen de un anillo  $\beta$ -lactámico unido a uno de dihidrothiazina. El mecanismo de acción es similar al de las penicilinas, interfiriendo con los mecanismos de síntesis de la pared bacteriana, además de su acción contra las PBP. Las modificaciones sobre los anillos, determinan las diferentes generaciones que existen de cefalosporinas, dando lugar a las de primera, segunda, tercera y cuarta generación presentando cada una diferente espectro de acción (Farmer & Kelly, 1991).

**Primera generación:** cefalotina y cefazolina. Acción contra Gram positivos, cocos Gram positivos (excepto *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*), *E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella* y algunos Gram negativos.

**Segunda generación:** cefoxitina y cefaclor. Tienen más actividad sobre Gram negativos.

**Tercera generación:** cefotaxima, ceftriaxona y cefixima menos activas contra cocos gram positivos, pero mayor espectro contra Gram negativos siendo más activas contra la familia *Enterobacteriaceae* y *P. aeruginosa*. Presentan más estabilidad frente a  $\beta$ -lactamasas. Su espectro incluye algunos bacilos Gram negativo, además de *Pseudomonas*. La resistencia puede estar relacionada con la incapacidad de alcanzar sus sitios de acción, alteración en las proteínas de unión con el antibiótico ó con enzimas bacterianas (Farmer & Kelly, 1991).

**Cuarta generación:** tienen un espectro de acción, que incluye la mayoría de bacterias Gram positivo, negativo y *Pseudomonas*. La alteración de las PBP, junto con los cambios de la pared externa de la bacteria (pérdida de canales o porinas), son los mecanismos responsables de la resistencia a este grupo farmacológico. La cefepima y la ceftiproma son cefalosporinas de la cuarta generación, su diferencia con las de tercera generación radica en ser más estables a la hidrólisis de las  $\beta$ -lactamasas e inducen débilmente las enzimas de esa índole de este modo actúan contra muchas enterobacterias resistentes a otras cefalosporinas, pero siguen siendo sensibles a otras, que expresan  $\beta$ -lactamasas mediadas por plásmidos de espectro extendido (ABC medicus, 2001 & Cordies *et al.*, 1998).

**3) Monobactam (aztreonam):** en 1976 y colaboradores descubrieron un conjunto de moléculas antibióticas que no presentaban el anillo  $\beta$ -lactámico fusionado, a las que se les denominó Nocardinas, con anillo monocíclico tiene actividad limitada contra aerobios gram negativo (parecida a aminoglicósidos, sin ser nefrotóxico). Indicado en cistitis, pielonefritis y en algunos pacientes con alergia a las penicilinas (Blanc, 2007).

**4) Carbapenemes:** son antibióticos naturales, que se caracterizan por poseer una elevada eficacia contra microorganismos Gram positivo y estabilidad frente a las  $\beta$ -lactamasas. El imipenem es un antibiótico, que no se hidroliza por la acción de  $\beta$ -lactamasas pues poseen buena afinidad contra PBP de bacterias Gram positivo y Gram negativo, además de actividad contra una gran variedad de anaerobios. Son potentes inductores de cefalosporinas. Es el antimicrobiano con mayor espectro que se conoce, es capaz de actuar contra cocos y bacilos Gram positivo y Gram negativo, aerobios y anaerobios, de importancia clínica (Céspedes & Portal, 1998).

**5) Inhibidores de las  $\beta$ -lactamasas:** son llamados inhibidores suicidas. Se unen a la enzima cambiando su estructura e inhibiéndola. Entre estos podemos mencionar al ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam (Blanc, 2007).

#### Antimicrobianos no betalactámicos

**1) Trimetoprim sulfametoxazol:** la mayoría de bacterias Gram negativas y positivas son sensibles al trimetoprim sulfametoxazol, pero debe hacerse notar que al utilizarlos por separado pueden desarrollar resistencia. Su actividad antimicrobiana es del 50 - 95% para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Pseudomona pseudomallei* y *Serratia* (Jawetz et al., 1995).

**2) Quinolonas:** Por muchos años los miembros más antiguos de ésta clase de antimicrobianos, en particular el ácido nalidíxico, estuvieron disponibles para el tratamiento de infecciones urinarias pero tiene una significancia relativamente menor por su desarrollo rápido de resistencia bacteriana. Contra éste inconveniente, la introducción más reciente de quinolonas fluorinadas como norfloxacin y ciprofloxacina representa un gran avance, pues éstos tienen una amplia actividad antimicrobiana y son efectivos luego de la administración oral (Farmer & Kelly, 1991).

Más recientemente ha surgido la pefloxacin, también quinolona fluorinada, la cual al administrarse por vía oral muestra una absorción del 100%, lo que la caracteriza como la de mejor biodisponibilidad dentro de la familia de las quinolonas. Tienen acción

bactericida contra *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Campylobacter*, *Haemophilus*, *Citrobacter*, *Staphylococos*, *Acinetobacter* y *Neisseria*.

**3) Aminoglucósidos:** A dosis altas pueden ser bactericidas. Inhiben en la síntesis proteica y disminuyen la fidelidad de la traducción del mensajero en el ribosoma. La resistencia antimicrobiana puede estar dada por una falla en la penetración del antibiótico, baja afinidad del fármaco por el ribosoma bacteriano o su inactivación por enzimas microbianas. La gentamicina es un agente importante para bacilos gram negativos. El espectro de actividad de la amikacina es el más amplio y tiene un papel especial en hospitales donde prevalecen microorganismos resistentes a la gentamicina (Jawetz *et al.*, 1987).

### Datos epidemiológicos

El descubrimiento de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos surgió poco después de iniciado el uso de la penicilina. Ya en 1944 se reportaron cepas productoras de betalactamasas que hidrolizaban la penicilina y la hacían inefectiva. Aunque inicialmente este tipo de resistencia sólo sucedía esporádicamente, rápidamente se propagó. La industria farmacéutica desarrolló nuevos fármacos, derivados a partir de los iniciales; para obviar este problema: nuevas penicilinas, cefalosporinas, combinaciones con inhibidores de betalactamasas, y carbapenems. Sin embargo, la introducción de nuevos antibióticos da lugar a la selección de cepas resistentes (Avellaneda & Pecho 2003; Pérez, 2003).

En cuanto a los microorganismos Gram negativo, tenemos que las enterobacterias están desarrollando resistencia frente al aztreonam y las cefalosporinas de tercera y cuarta generación mediante la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). El primero de estos casos se reportó en Alemania en 1983. Luego este tipo de resistencia se fue difundiendo y actualmente *K. pneumoniae* y *E. coli* son los microorganismos más frecuentemente asociados con producción de BLEE. Al observar los porcentajes de sensibilidad de *E. coli*, tal como lo reporta un estudio en seis países latinoamericanos, vemos que en general mantienen una buena actividad imipenem 98%, amikacina 95%, cefalosporinas de tercera generación 88 - 92% y cefpirome 91%. Es destacable una clara tendencia de *E. coli* a presentar una mayor resistencia a diferentes grupos de antibióticos, lo cual se pone de manifiesto por un aumento constante y mantenido de aislamientos resistentes a Ciprofloxacina (quinolona) y Ampicilina (betalactámico) (Rayo & Rodríguez, 1999).

De igual forma en Guatemala durante el año 2001, se realizó un estudio con los seis hospitales que constituyen la red de monitoreo/vigilancia de la resistencia a los antibióticos: Hospital Roosevelt, Hospital General San Juan de Dios, Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS), Hospital Nacional del Quiché, Hospital Nacional de Cobán y Hospital Nacional de Zacapa; los resultados fueron los siguientes: de 1298 aislamientos de *E. coli* se reporta un 74% de resistencia a ampicilina, 23% a ciprofloxacino, 64% trimetoprim/sulfametoxazol, 10% a gentamicina y 14% a ceftazidima; según los resultados obtenidos por la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, podría existir presencia de BLEE, en cualquiera de los hospitales que conforman la red (Pérez, 2003).

### **Bases Genéticas de la Resistencia**

La aparición de resistencia bacteriana se debe a cambios estructurales y fisiológicos que van a neutralizar los efectos del antibiótico. Estos cambios ocurren por dos mecanismos genéticos principales (Avellaneda & Pecho., 2002).

#### a) Mutaciones en un gen cromosómico

Los cambios en el cromosoma pueden ser debidos al azar o a la influencia de agentes físicos o químicos y no necesariamente debido a la exposición al antibacteriano. Es posible que cualquier población grande de bacterias susceptibles a antibióticos contenga algunos mutantes que sean relativamente resistentes al fármaco (Avellaneda & Pecho., 2002; Rayo & Rodríguez, 1999).

#### b) Introducción de un Plásmido R de resistencia

Es la adquisición, por parte del microorganismo, de genes para la resistencia transportados en plásmidos extracromosomales, mediante transducción, transformación o conjugación. Este mecanismo es más frecuente que el mutacional, se disemina rápidamente aún entre diferentes especies bacterianas, puede conferir resistencia a varios antibióticos a la vez y a diferencia del anterior, no suele producir una desventaja adaptativa, es decir, no disminuye la tasa de crecimiento de la bacteria ni la hace perder sus propiedades de virulencia (Pujol, 2003).

### **Mecanismos Bioquímicos de Resistencia**

Los eventos genéticos descritos anteriormente dan lugar a diversos tipos de alteraciones bioquímicas en el metabolismo bacteriano.

## Inactivación Enzimática

Este tipo de mecanismo depende en muchos casos de la mutación de plásmidos, tipo TEM, SHV. El ejemplo más común es la producción de enzimas  $\beta$ -lactamasas, y recientemente la producción de Betalactamasas de espectro extendido en *Enterobacterias*, que inactivan al aztreonam y las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Otras enzimas que inactivan antibióticos para cloranfenicol son la cloranfenicol acetiltransferasa y en el caso de los aminoglucósidos, las enzimas adenilantes, acetilantes y fosforilantes (Pujol, 2003).

### $\beta$ -lactamasas

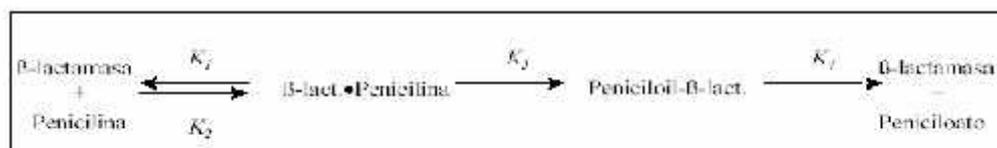
#### Generalidades sobre $\beta$ -lactamasas

Las betalactamasas o penicilín amido-beta-lactamhidrolasas han sido definidas por el Nomenclature Committee of the Internacional Unión of Biochemistry como “enzimas que hidrolizan amidas, amiditas y otras uniones C-N”.

Las betalactamasas son la mayor defensa de las bacterias Gram-negativas frente a los antibióticos betalactámicos. Son enzimas responsables de la mayor parte de los fracasos terapéuticos debido a que hidrolizan el anillo betalactámico inactivándolo (Bush, 1989). En las bacterias Gram-negativas, las betalactamasas plasmídicas son constitutivas y su grado de producción está en relación con el número de copias del plásmido, mientras que las betalactamasas cromosómicas, pueden ser constitutivas o inducibles (Jacoby & Muñoz-Price, 2005).

#### Mecanismo de acción

Las  $\beta$ -lactamasas (enzima) unen el antibiótico  $\beta$ -lactámico (sustrato) formando un complejo no covalente (enzima-sustrato). Si el complejo no se disocia, se forma un enlace entre el enzima y el sustrato produciéndose una estructura acil-enzima por unión del antibiótico con el grupo hidroxilo de la serina del centro activo. Finalmente el producto de la hidrólisis se desprende de la enzima quedando ésta nuevamente libre para su acción.



Cuando el núcleo  $\beta$ -lactámico de las penicilinas es hidrolizado por una  $\beta$ -lactamasa se produce estequiométricamente el correspondiente peniciloato, compuesto inactivo, relativamente estable y fácilmente detectable. El primer producto generado tras el ataque de la  $\beta$ -lactamasa sobre una cefalosporina es hipotéticamente, un cefalosporato análogo al peniciloato. Sin embargo, los cefalosporatos son muy inestables y se degradan rápidamente a moléculas más sencillas por lo que son muy difíciles de detectar como tales (Jacoby & Medeiros, 1991).

#### **$\beta$ -lactamasas bacterianas: Clasificación**

Las  $\beta$ -lactamasas bacterianas se clasifican principalmente atendiendo a dos esquemas, la clasificación molecular de Ambler (1980) divide las betalactamasas en cuatro clases (A-D) se basa en la similitud u homología de las proteínas y no tiene en las características fenotípicas. Las clases A, C y D son serina-betalactamasas y la clase B son metalo-betalactamasas. La clasificación funcional de Bush, et al. (1991) también consta de y cuatro grupos y diversos subgrupos; se basa en las características funcionales, teniendo en cuenta distintos criterios como las propiedades bioquímicas (peso molecular, secuenciación de nucleótidos), las propiedades físicas (punto isoeléctrico), el espectro de hidrólisis, el espectro de inhibición, la codificación plasmídica y cromosómica (Solórzano, 2004).

#### **Producción de betalactamasas**

Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma de la bacteria o en segmentos de DNA extracromosómico, denominados plásmidos los cuales son los responsables de la diseminación de la mayor parte de las betalactamasas. Los genes que codifican algunas betalactamasas son transportados por transposones y muchos genes son encontrados en integrones, los cuales a menudo incluyen genes que confieren resistencia a otros antibióticos (Jacoby & Muñoz-Price, 2005).

Las principales betalactamasas responsables de la resistencia en los bacilos Gram-negativos son la betalactamasa inducible AmpC (clase C) y las betalactamasas plasmídicas de amplio espectro y de espectro extendido (BLEE - clase A) (Levison, 2002).

#### **Betalactamasas cromosómicas**

Muchas bacterias Gram-negativas poseen betalactamasas cromosómicas que podrían derivar de las penicillin binding proteins (PBP) con las que comparte alguna homología.

Su origen sería debido a la presión selectiva ejercida por los betalactámicos sobre microorganismos del suelo encontrados en el ambiente (Gupta, 2007).

Todas las enterobacterias excepto *Salmonella* spp. poseen una betalactamasa cromosómica la cual juega un papel importante tanto en la síntesis de la pared celular como en la protección de la bacteria frente a los antibióticos betalactámicos y además es responsable de la resistencia intrínseca dentro de cada especie (Susic, 2004).

Las betalactamasas cromosómicas pueden ser de producción constitutiva (alto o bajo nivel) o inducible (Livermore, 1995). Algunos microorganismos poseen betalactamasas antes del uso de los antibióticos como AmpC de enterobacterias. La razón de ello podría ser que estas enzimas juegan un papel importante en la síntesis del peptidoglicano o bien defienden a la bacteria frente a otras bacterias y hongos (Jacoby & Muñoz-Price, 2005).

*E. coli* posee una betalactamasa AmpC constitutiva de bajo nivel la cual no contribuye a la resistencia frente a los antibióticos betalactámicos. Por el contrario, *P. aeruginosa* y otras enterobacterias principalmente *E. aerógenes* presentan una betalactamasa AmpC inducible. La producción de AmpC en ausencia del antibiótico inductor se mantiene en un estado reprimido y prácticamente no se produce debido a la acción de los genes reguladores (ampR, ampD, ampE, ampG).

En presencia del antibiótico inductor estos mismos genes permiten la expresión de la enzima, lo que se denomina estado "desreprimido reversible". Puede suceder que mutaciones en los genes reguladores provoquen la expresión de grandes cantidades de la enzima constitutiva es el denominado estado "desreprimido estable", estos mutantes son resistentes a cefalosporinas de tercera generación, aztreonam, cefamicinas, penicilinas de amplio espectro e inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (Levison, 2002).

### **Betalactamasas plasmídicas**

En general las betalactamasas plasmídicas son diferentes a las betalactamasas cromosómicas, pero en algunos casos existe un solapamiento, como por ejemplo en el caso de SHV-1 que normalmente es una betalactamasa plasmídica pero en *K. pneumoniae* es cromosómica (Matthew Hedges *et al.*, 1979) (Jacoby & Muñoz-Price, 2005) y la AmpC que puede presentarse en plásmidos.

Las betalactamasas plasmídicas incluyen las betalactamasas de amplio espectro, las betalactamasas de espectro extendido, las betalactamasas resistentes a los inhibidores, las cefamicinasas AmpC y las Carbapenemasas.

### **Betalactamasas de espectro extendido**

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que hidrolizan a las cefalosporinas de espectro extendido que contienen una cadena lateral oximino; entre las que están incluidas la ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima y también el aztreonam. No actúan sobre cefamicinas ni carbapenemes. Son inhibidas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de betalactamasas como el sulbactam o tazobactam (Patterson, 2003).

Las BLEE han emergido en las dos últimas décadas como un problema creciente que dificulta el tratamiento de infecciones producidas por las bacterias portadoras (Gobernado, 2005).

Su aparición se asocia al uso excesivo de las cefalosporinas de amplio espectro y el aztreonam. Son enzimas de configuración plasmídica producidas por bacilos gram-negativos, principalmente enterobacterias, en concreto *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, pero también pueden aparecer en bacilos no fermentadores y otras enterobacterias. Derivan de las betalactamasas de amplio espectro (TEM-1, TEM-2, SHV-1), pertenecientes al grupo 2b de la clasificación de Bush, Jacoby & Medeiros; cuando estas sufren mutaciones (el hecho de que se produzca un cambio de uno o más aminoácidos implica una apertura del sitio activo del enzima permitiendo un mayor acoplamiento de la gran cadena lateral del betalactámico) en el centro activo dan lugar a estas otras betalactamasas de espectro extendido, que hidrolizan a las cefalosporinas de tercera generación y a los monobactámicos, clasificándose en el subgrupo 2be (clase molecular A); No todas las BLEE pertenecen al grupo 2be, ya que algunas oxacilinasas, que pertenecen al grupo 2d (clase molecular D), son BLEE (Philippon *et al.*, 1989) (Patterson, 2003).

#### **-lactamasas en Bacterias Gram negativo**

Las -lactamasas producidas por estas bacterias presentan una gran diversidad. Se localizan en el espacio periplásmico, casi todas las bacterias Gram negativas producen una, o más de una, -lactamasa codificada por genes cromosómicos (gen AmpC en *E. coli*) y en ocasiones pueden expresar otras de origen extracromosómico (BLEA y BLEE en *Klebsiella*) las cuales son codificadas por genes localizados en plásmidos o en transposones (Jacoby & Muñoz-Price, 2005).

Las -lactamasas cromosómicas son codificadas por un gen (AmpC), las cuales existen inducibles y en algunas oportunidades y por procesos de mutación no inducibles. Las -lactamasas inducibles solo aparecen cuando el gen AmpC se activa solamente en

presencia del antibiótico, por tal razón se han clasificado los antibióticos en tres grupos según la inducción y la sensibilidad que presenten frente a las  $\beta$ -lactamasas (Bush *et al.*, 1995).

Grupo 1. Antibióticos que son buenos inductores y sensibles a la enzima

Cefalosporinas de Primera Generación

Cefalosporinas de Segunda Generación

Cefamicinas (Cefoxitina)

Inhibidores de  $\beta$ -lactamasas: Acido Clavulánico, Sulbactam, Tazobactam.

En el antibiograma se verán como resistentes.

Grupo 2: Antibióticos que son buenos inductores y resistentes a  $\beta$ -lactamasas

Carbapenemes: Imipenem y meropenem

En el antibiograma se verán sensibles.

Grupo 3: Antibióticos que son malos inductores y sensibles a la  $\beta$ -lactamasas

Cefalosporinas de Tercera Generación (Cefotaxima, Ceftazidima, Ceftriaxona) Ticarcilina, Piperacilina, en el antibiograma se verán sensibles

Las  $\beta$ -lactamasas no inducibles están presentes siempre, a este mecanismo se le conoce como Amp-C reprimida en el cual la población mutante produce la  $\beta$ -lactamasas constantemente sin necesidad de inducción, por lo que se presentará resistencia a ticarcilina y cefalosporinas de tercera generación (Matheu, 2003).

Las  $\beta$ -lactamasas extracromosómicas en general, son enzimas con actividad hidrolítica de amplio espectro y se inhiben por ácido clavulánico. Suman su actividad, que por lo general es más elevada, a la de la  $\beta$ -lactamasas cromosómicas. Se encuentran ampliamente distribuidas entre los diferentes géneros y especies bacterianas (Avellaneda & Pecho, 2002).

**BLEE:** Las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido, sin actividad sobre cefalosporinas de tercera y cuarta generación es una  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido, causada por mutación de plásmidos, tipo TEM, SHV, CTX-M, OXA; hay más de 150 enzimas conocidas. La resistencia a cefalosporinas fue detectada por primera vez en Alemania en 1983, luego en una epidemia en Francia en 1985. La BLEE se han reportado en bacterias como *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, *Aeromonas* y *Pseudomonas*. Esta  $\beta$ -lactamasas presentaba actividad hidrolítica frente a cefalosporinas de tercera generación y monobactams. Estas mutaciones les confieren al germen que produce cierta resistencia a cefotaxime, ceftazidime y otras cefalosporinas de amplio espectro y a aztreonam pero no aportan resistencia a la acción de las cefamicinas o imipenem (Levison, 2002).

Las enzimas se encuentran codificadas en plásmidos lo que les otorga una capacidad de diseminación en distintas cepas que ha hecho que se hayan difundido en pocos años se inhiben por ácido clavulánico por el que presentan una gran afinidad, son inhibidos además por otros inhibidores como el sulbactam y el tazobactam. Esta propiedad se emplea en el laboratorio para su detección mediante la técnica denominada de sinergia en doble disco. Inicialmente se les denominó con los términos ceftazidimasas (CAZ) o cefotaximasas (CTX) según su fenotipo de resistencia fuese preferentemente activo frente a ceftazidima o cefotaxima (Iliczyszy & Hurí, 1999).

Las diferentes BLEE varían en la eficiencia cinética y en el grado de la resistencia que causan. Algunas tienen una actividad muy amplia con actividad similar frente a cefotaxima y ceftazidima y dan lugar a resistencia para todas las cefalosporinas de amplio espectro. Otras tienen un fenotipo de ceftadizimasa, con mayor actividad frente a ceftazidima que frente a otras cefalosporinas. Las ceftazidimasas da una resistencia a ceftazidima pero causa solo una pequeña reducción en la sensibilidad a cefotaxima, ceftriaxona y ceftizoxime (Iliczszyn & Hurí, 1999).

La sensibilidad frente al imipenem permanece inalterable. La mayoría de estas - lactamasas han sido aisladas en cepas de *K. pneumoniae* de origen hospitalario. La mayoría de los aislamientos clínicos que producen BLEE emparentadas con TEM o SHV son de pacientes hospitalizados y causan con cierta frecuencia brotes nosocomiales. La epidemiología de aquellas cepas que producen Betalactamasas de amplio espectro no difiere de la del resto de las enterobacterias. La infección se desarrolla en el 50 % de los pacientes colonizados, siendo la mitad infección del tracto urinario. Los factores de riesgo para la colonización o infección son la duración del tiempo de exposición a una cepa epidémica y la frecuencia del contacto con personal sanitario (Escobedo, 2002).

Las cepas productoras de BLEE, son responsables de infecciones nosocomiales graves, aunque se ha visto que no solamente *Klebsiella pneumoniae* es causante de dichas infecciones sino que también se han visto involucradas *E. coli* y *K. oxytoca* productoras de BLEE, el perfil de multirresistencia antibiótica que expresan estas cepas ocasiona, especialmente en ámbito hospitalario, un problema terapéutico de notables dimensiones. Los genes que codifican las BLEE y los que codifican la resistencia a otros antimicrobianos, pueden residir en el mismo plásmido conjugativo y, por lo tanto, se transmiten juntos de un microorganismo a otro, confiriendo el perfil de resistencia antibiótica múltiple (Levison, 2002).

Por otro lado, los problemas clínicos también son consecuencia de que las cepas productoras de BLEE con frecuencia podrían parecer sensibles *in vitro* a los oximino - lactámicos, ello ocasiona que los laboratorios de microbiología puedan tener dificultades para identificar de forma adecuada los fenotipos de bacilos Gram negativo productores de BLEE y que algunos pacientes reciban un tratamiento antibiótico poco adecuado. En este sentido algunos estudios han demostrado que las cefalosporinas de amplio espectro no son eficaces en las infecciones producidas por bacterias Gram negativas (BGN) con BLEE, incluso cuando estos son aparentemente sensibles *in vitro*. Los datos de resistencia antibiótica proporcionados por el proyecto SENTRY, procedentes de aislamientos en pacientes hospitalizados desde 1997 hasta 1999, han demostrado que los BGN con BLEE tienen una amplia distribución mundial, aunque con grandes diferencias según las áreas geográficas (Emery & Weymouth, 1997).

#### **Disminución de la permeabilidad de la membrana celular**

Los cambios bioquímicos que reducen la captación, ya sea porque reducen el ingreso o porque aumentan la salida o eflujo del antimicrobiano, se han encontrado los siguientes casos: Aumento del eflujo, para tetraciclinas, macrólidos y quinolonas y Reducción del ingreso por disminución de permeabilidad, si el medicamento no accede al interior bacteriano por algún mecanismo de transporte. Esto supone una mayor resistencia al antibiótico, esto ocurre para trimetoprim, quinolonas, tetraciclinas cloranfenicol y Betalactámicos. Por ejemplo en *E. coli* el reemplazo de la porina OmpF por OmpC causa un aumento en la concentración inhibitoria mínima de varios antibióticos betalactámicos, debido a los cambios en la constitución de la membrana celular externa del microorganismo (Pujol, 2003).

#### **Disminución de la concentración intracelular del antibiótico**

El ejemplo más típico es la resistencia a las tetraciclinas desarrollada por muchas bacterias ya que el efecto inhibitor de las tetraciclinas depende de la acumulación activa de este tipo de antibióticos por parte de las bacterias. Ciertos plásmidos R poseen transposones que codifican un sistema para bombear tetraciclina desde el interior bacteriano hacia el exterior, en contra de la gradiente de concentración (Pujol, 2003).

#### **Modificación de la estructura de las proteínas blanco**

Se ha encontrado este tipo de resistencia frente a varios antibióticos. Por ejemplo los cambios en la proteína receptora de la subunidad 30S producen resistencia a los aminoglucósidos; las alteraciones o aparición de nuevas proteínas fijadoras de

penicilinas, a los betalactámicos; la metilación del ARN ribosomal en la subunidad 50S, confiere resistencia cruzada a eritromicina y clindamicina y las alteraciones en la ADN girasa, producen resistencia a quinolonas; para trimetropim, cambios en la dihidrofolato reductasa bacteriana; para sulfonamidas, cambios en la dihidroptericoico sintetasa; para Vancomicina, cambios en los péptidos de la pared celular bacteriana (Pujol, 2003).

## 2.2.2 Escherichia coli y las infecciones del tracto urinario

### Familia Enterobacteriaceae estructura y factores de virulencia

La familia Enterobacteriaceae, son bacilos Gram-negativos de gran importancia en la patología infecciosa, estando implicados en diferentes síndromes clínicos. Es el grupo de microorganismos que más frecuentemente se aísla en los laboratorios clínicos de microbiología, produciendo infecciones tanto en pacientes con inmunidad conservada como en inmunodeprimidos y son causantes de diferentes tipos de infecciones tanto de adquisición en la comunidad como nosocomiales (Hernández *et al.*, 2005) (Hernández *et al.*, 2003).

Los miembros de esta familia forman parte de la microbiota intestinal, pero además, en pacientes alcohólicos, diabéticos o ingresados en un hospital se pueden aislar de la cavidad oral y faringe (Hernández *et al.*, 2005). *E. coli* es la enterobacteria más importante ya que es la que se halla con más frecuencia en el tracto digestivo y la más descrita como causa de patología en los seres humanos. Se trata de un enterobacteria móvil, catalasa positiva, oxidasa negativa, reduce el nitrato a nitrito, normalmente fermenta la lactosa, produce indol a partir del triptófano siendo negativa la reacción de Voges - Proskauer, ureasa y fenilalanina desaminasa (Mandell *et al.*, 2005).

#### Estructura

La cubierta celular de las enterobacterias, al ser Gram-negativas, es del tipo didermo y está constituida por (Figura 1): Membrana citoplasmática externa, formada por una capa de fosfolípidos con proteínas intercaladas. Sobre ésta se sitúa una capa fina de peptidoglicano y entre ambas se encuentra el espacio o gel periplásmico, también llamado por algunos autores periplasma.

Por encima se sitúa la membrana externa constituida por una bicapa de fosfolípidos intercalada con distintos componentes como el lipopolisacárido (LPS), lipoproteínas y porinas.

Además en el caso específico de las enterobacterias, aparecen componentes como flagelos, fimbrias o pili y las adhesinas no fimbrias (Mandell *et al.*, 2005).

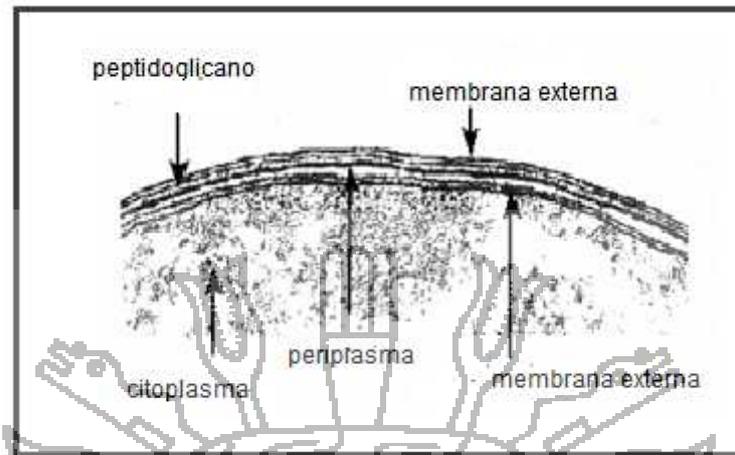


Figura 1.: Estructura de la cubierta celular de bacterias Gram-negativas. Fuente: [www.conacyt.mx](http://www.conacyt.mx)  
La estructura antigénica está formada por tres clases de antígenos (Figura.2)

**Antígenos somáticos o antígenos O**

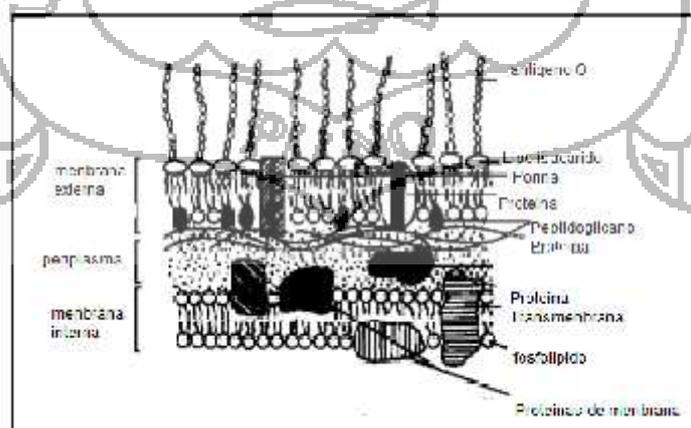
Son cadenas de polisacárido procedente del lipolisacárido (LPS) capsular que están presentes en todas las bacterias Gram negativas; es el que le confiere especificidad serológica.

**Antígenos flagelares o antígenos H**

Son proteínas que se localizan en los flagelos.

**Capsulares o antígenos K**

Presentes en cepas con cápsula, constituyen una barrera defensiva disminuyendo la capacidad de los anticuerpos para unirse a la bacteria, son un factor de virulencia fundamental porque impide la fagocitosis.



Fuente: [www.losmicrobios.com.ar](http://www.losmicrobios.com.ar)

Figura 2: Estructura antigénica de bacterias gram negativas Fuente: [www.conacyt.mx](http://www.conacyt.mx)

### **Factores de virulencia**

Son todas las estructuras o productos bacterianos que intervienen en el proceso infeccioso. Las enterobacterias poseen una serie de factores de virulencia implicados en la producción de los diferentes síndromes clínicos, por una parte poseen fimbrias y adhesinas imprescindibles para adherirse a las mucosas, siendo este el primer paso para la colonización bacteriana, por otra parte producen toxinas como la endotoxina o lipopolisacárido de la pared y otras: hemolisina, citotoxinas y por último poseen plásmidos que son unidades de ADN extracromosómicos, intracitoplasmáticos, con capacidad de autorreplicación y que juegan un papel fundamental en la codificación de información para su acción patógena (islas de patogenicidad) así como para la resistencia a los antibióticos (Mandell *et al.*, 2005).

*E. coli* uropatógena mediante sus adhesinas fimbriadas se ligan típicamente a los receptores de las células periuretrales y constituye el principal factor condicionante de la colonización inicial de la mucosa vesical. Estas fimbrias y pili son estructuras proteináceas en forma de bastones de 2 a 7 nm, que están dispuestos a modo de pelos periféricos en la superficie en número de 100 a 1000 por célula (Mandell *et al.*, 2004). Existen dos tipos principales de adhesinas en *E. coli* uropatógena con diferentes propiedades antigénicas funcionales, fimbrias tipo 1 (manosa sensibles, universal) y fimbrias P (tipo 2, manosa resistente) (Martínez *et al.*, 1997; Barreto *et al.*, 2001 & Wilson, 2002).

### **Infecciones del tracto urinario**

Entendemos por infección la entrada, establecimiento y multiplicación de microorganismos en el interior o en la superficie de un huésped, existiendo distintos grados de relación entre el huésped y el microorganismo (Figura. 3): colonización, infección inaparente y enfermedad infecciosa (Andréu *et al.*, 2005).

La infección del tracto urinario (ITU) se caracteriza por la presencia de microorganismos en el tracto urinario a cualquier nivel, desde el extremo distal de la uretra hasta el corte renal (uretra, vejiga, próstata, uréteres, pelvis renal o riñones), englobando diferentes entidades clínicas que requieren su catalogación mediante la correlación clínica-laboratorio (Levison, 2002).

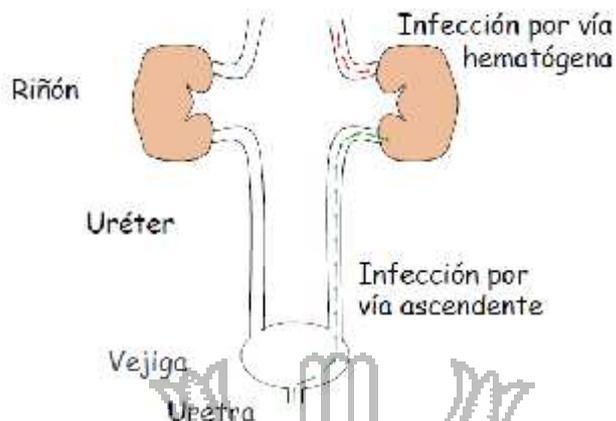


Figura 3: Esquema de las vías de acceso de la infección al riñón Fuente: [www.conacyt.mx](http://www.conacyt.mx)

*E. coli* accede al sistema genitourinario a través del periné desde el tubo digestivo, fundamentalmente en las mujeres por presentar una uretra más corta. La vía urinaria es el origen de la mayoría de las bacteriemias y su posterior diseminación a otros tejidos. El término infección urinaria incluye distintos síndromes como pielonefritis aguda y crónica, cistitis y síndrome uretral agudo, los cuales afectan a diversas estructuras de las vías urinarias, presentando diferencias en relación a la clínica y gravedad del cuadro que producen (Mandell *et al.*, 2004).

Las infecciones del tracto urinario son, dentro de las infecciones bacterianas, de las más frecuentes en el hombre, siendo los bacilos Gram - negativos el grupo taxonómico más frecuentemente aislado, predominando *Escherichia coli* como agente causal. De hecho, la infección de las vías genitourinarias ocupa el segundo lugar en frecuencia, después de las infecciones del aparato respiratorio. Esta incidencia junto a su morbilidad (pielonefritis crónica, insuficiencia renal) y mortalidad (foco de bacteriemia y sepsis), representan un importante reto a la hora de establecer su diagnóstico y tratamiento (Mandell *et al.*, 2004).

Las infecciones del tracto urinario son de gran importancia por su prevalencia. Más del 95% de las ITU son monobacterianas. Siendo *E. coli* el microorganismo más frecuentemente implicado en la infección aguda y en infecciones producidas en pacientes ambulatorios. Sin embargo en el caso de infecciones recurrentes, especialmente en presencia de anomalías estructurales del aparato urinario, como son anomalías congénitas, vejiga neurogénica y obstrucciones del aparato urinario, las especies implicadas son *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, y *Enterobacter* seguido de *Enterococos* y *Staphylococos*. En este último caso son más frecuente las infecciones polimicrobianas y los microorganismos suelen ser más resistentes debido a que estos pacientes suelen ser tratados con varios ciclos de antibiótico (Mandell *et al.*, 2005).

Para realizar un diagnóstico se debe recurrir a los análisis microbiológico, ya que los signos y síntomas que pueden aparecer acompañando a la infección del tracto urinario no poseen la suficiente especificidad. Las infecciones del tracto urinario se dividen en infecciones de vías altas y bajas. Describiéndose cuatro síndromes principalmente: uretritis, cistitis, prostatitis y pielonefritis (Mandell *et al.*, 2004).

### **Infección urinaria aguda inicial**

Esta modalidad de presentación puede ocurrir como episodio aislado e incluso algunas veces desaparecen espontáneamente. El tratamiento adecuado del primer episodio permite reducir el número de enfermos con infecciones urinarias agudas recurrentes y crónicas en el futuro. Sabemos a priori que el agente etiológico principal de la infección urinaria inicial es la *Escherichia coli*, según diversas publicaciones su frecuencia fluctúa entre un 60 a 80% y en un porcentaje francamente menor la *Klebsiella* enterobacter, *Proteus* y otros (Vergara, 1993).

### **Infección urinaria aguda recurrente o recidivante**

Esta forma clínica de la infección urinaria es frecuente de observar, y este grupo de pacientes requiere tratamiento antimicrobiano prolongado ya sea en forma continua e intermitente.

A medida que el número de episodios de infecciones urinarias aumenta, la *Escherichia coli* va disminuyendo de frecuencia como agente etiológico. Grupo de pacientes con primera infección *E. coli* se aísla en un 80% de los casos; con segunda infección *E. coli* se aísla en un 71% de los casos; con tercera infección *E. coli* se aísla en un 56% de los casos (Vergara, 1993).

### **Infección urinaria crónica**

Asociada frecuentemente a malformaciones anatómicas y en general con escasas posibilidades de curación. El aislamiento del agente etiológico y el estudio de sensibilidad son particularmente importantes en estos casos, debido a que el agente etiológico cambia (sustitución), aparecen mutantes resistentes al antimicrobiano empleado y además, con cierta frecuencia existe infección causada a flora mixta o múltiple (asociaciones microbianas) (Vergara, 1993).

## 2.2 Marco conceptual.

**Antimicrobiano de amplio espectro.** Rango de actividad betalactámico para inhibir una gran variedad de bacterias Gram negativas.

**Antígenos.** Es una sustancia ajena al cuerpo que el sistema inmunológico reconoce como una amenaza.

**Betalactamasas de espectro extendido.** Son enzimas bacterianas que pueden conferir resistencia a cefotaxima, ceftaxidima, aztreonam, penicilinas de espectro extendido y antibióticos betalactámicos estructuralmente relacionados, en aislamientos clínicos de *Klebsiella Pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Escherichia coli* y otros géneros de la familia Enterobacteriaceae.

**Betalactámicos.** Son un grupo de antibióticos de origen natural o semisintético que se caracterizan por poseer en su estructura un anillo betalactámico

**Cuali – cuantificación.** Es un método establecido para estudiar de manera científica una muestra, observando las características específicas y luego procediendo al número de casos.

**Conjugación bacteriana.** Consiste en la transferencia de DNA entre bacterias mediante contacto directo, depende de la presencia de un trozo extra de DNA como plásmidos.

**Consultorio externo.** Es el lugar donde se brinda atención por un profesional médico a un paciente ambulatorio.

**Diseño probabilístico simple.** Se basa en la selección muestral aleatoria porque otorga la misma probabilidad de ser elegidos a todos los elementos de la población, cuando se pretende estimar parámetros y comprobar hipótesis.

**Enzima TEM.** Tipo de betalactamasa plasmídica

**Escala de Mc Farland.** Estándar de turbidez se sulfato de bario; usada para el inóculo de las pruebas de susceptibilidad por el método de disco difusión es 0,5.

**Espectro extendido.** Capacidad de una bacteria de hidrolizar antibióticos de amplio espectro.

**Hospitalización.** Ambiente donde los pacientes presentan una enfermedad la cual debe ser tratada.

**Infección del tracto urinario (ITU).** Es la colonización del parénquima renal o del tracto urinario por microorganismos (bacterias, hongos).

**Método de Kirby Bauer.** Es un método de prueba de difusión estandarizada por el CLSI (NCCLS). En la cual se han desarrollado estándares para su interpretación y está apoyado por datos clínicos y de laboratorio.

**Multirresistencia.** Es cuando una cepa bacteriana es resistente a varios antimicrobianos o tipos de antimicrobianos distintos.

**NCCLS.** El Comité Nacional para la Normatización de Laboratorios Clínicos.

**Plásmidos.** Forma no celular de vida, fragmento celular de ADN bicatenario que contienen unos cuantos genes y se encuentra en el interior de ciertas bacterias.

**Patogenicidad bacteriana.** Es la capacidad de las bacterias para causar daño. Se relaciona con la virulencia del organismo y la resistencia del hospedero.

**Prospectivo.** Son aquellos cuyo inicio es anterior a los hechos estudiados de forma que los datos se recogen a medida que van sucediendo.

**Susceptibilidad.** Nivel de actividad antibacteriana en el sitio de infección, que sea suficiente para inhibir las bacterias de modo que incline el balance a favor del huésped.

**Resistencia bacteriana.** Es la capacidad que tienen las bacterias de soportar los efectos de los antibióticos o biocidas destinados a eliminarlos o controlarlos.

**Resistencia antimicrobiana.** Se define como la capacidad de los microorganismos a sobrevivir o incluso a crecer y multiplicarse, en presencia de un agente antimicrobiano, tales como los antibióticos, a concentraciones normalmente suficientes para inhibir o matar microorganismos.

**Transversal.** Son los estudios en los que los datos de cada unidad de observación representan un momento en el tiempo

**TSI.** Medio bioquímico diferencial triple sugar agar que contiene tres azúcares que la bacteria utiliza como sustrato.

**Unidades formadoras de colonia (ufc).** Término que se utiliza para reportar la cuenta de las colonias en placa, las cuales pueden surgir de una célula o de un cúmulo de células

**Uropatógenos.** Microorganismos que originan enfermedad en vías urinarias en especial por bacterias y virus.

**Urocultivo.** Cultivo de orina para el aislamiento de bacterias u otros gérmenes en una muestra de orina.



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ámbito de estudio

La investigación se realizó en el Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”- Puno, servicio de Laboratorio clínico, área de Microbiología. Ubicada entre las coordenadas geográficas 15°50'15" latitud sur y 70°01'18" longitud oeste de meridiano de Greenwich, altitud aproximada entre los 3820 msnm. Su clima se caracteriza por ser templada y tolerable por la proximidad al Lago Titicaca. (SENAMHI, 2012).

#### 3.2 Unidad de análisis

A unidad de observación estuvo conformada por pacientes que asisten al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”- Puno, con diagnóstico presuntivo de infecciones del tracto urinario.

#### 3.3 Diseño y tipo de estudio

El diseño de investigación es de corte transversal, el estudio es de tipo descriptivo, retrospectivo donde se evaluó la Multirresistencia de *E. coli* productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

#### 3.4 Población y muestra

La población estuvo constituido por la totalidad de pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” - Puno, con diagnóstico presuntivo de infección urinaria. La muestra fue representada por 42 pacientes con infección del tracto urinario, de los cuales 26 fueron BLEEs positivos seleccionados mediante el diseño probabilístico simple en aquellos que cumplan con los siguientes criterios.

#### Criterios de inclusión:

Pacientes con diagnóstico presuntivo de infección urinaria procedentes de servicios del hospitalización y consulta externa con urocultivos positivos a cepas de *Escherichia coli* que presenten confirmación fenotípica de producción BLEEs.

Pacientes mayores de 16 años de edad.

#### Criterios de exclusión:

Pacientes que recibieron antibióticos en las 48 horas previas a la atención.

Urocultivos positivos con aislamientos diferentes a *Escherichia coli* uropatógena.

#### 3.5 Procedimiento, técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Se coordinó con el Jefe del departamento de laboratorio clínico y anatomía patológica y el personal que labora el servicio de laboratorio del Hospital Regional “Manuel Núñez

Butrón” - Puno, para la ejecución del estudio en dicha Institución. A continuación se presentan los procedimientos realizados de acuerdo a los objetivos planteados

### **3.5.1 Aislamiento e identificación del uropatógeno *Escherichia coli*.**

**Recolección de muestra.** Se recolectó la orina del chorro medio de la primera micción del día en un frasco recolector estéril, tras limpieza de los labios mayores o el glande con jabón y agua (Mins *et al.*, 1995).

**Método: Urocultivo cuantitativo**

**Técnica: aza calibrada**

**Fundamento:**

El urocultivo se basa en el proceso de crecimiento de microorganismos patógenos a partir de muestras de orina en el medio Mc Conkey en el laboratorio, que permitan la cuali - cuantificación de los gérmenes a través de la técnica de siembra con azas calibradas que cargó un volumen 10 ul de orina, permitiendo que se estime el número de microorganismos presentes en la muestra de acuerdo con al UFC en los cultivos que nos permitió determinar si existe o no patología infecciosa en vías urinarias (Torrico & Trigos 2003; Forbes & Sahm, 2004).

**Procedimiento:**

**Siembra, lectura e interpretación del urocultivo,** según Forbes & Sahm (2004).

La siembra se realizó a partir de muestras de orina con una aza calibrada de 10 ul, por agotamiento en la superficie del medio agar Mc Conkey, enseguida el cultivo se incubó a 37°C por 24 a 48 horas (anexo 3); Si durante las 24 horas no se hubiese desarrollado las colonias, se incubó otras 24 horas, si al cabo de 48 horas no existe crecimiento habiéndose reportado como cultivo negativo. Si en 24 a 48 horas hubo crecimiento de colonias características en los medios de cultivo, se cuantifico el número de unidades formadoras de colonia (UFC) para determinar la cantidad de microorganismos por mL por muestra para tomar en cuenta en el cuadro de interpretación general de urocultivos (anexo 3).

**Identificación de uropatógenos**

Se realizó de acuerdo a los criterios fenotípicos considerando la morfología macroscópica de la colonia, las características culturales como el tamaño, la forma el calor, el aspecto de la superficie de las colonias y todo cambio que el desarrollo de la colonia produce en el medio de agar que lo rodea. Posteriormente la identificación bioquímica se realizó a través de medios bioquímicos diferenciales TSI, LIA, citrato y indol en tubos los cuales se

incubaron por 18 - 24 horas a 37°C procediéndose luego a las lecturas e identificación del germen aislado manualmente.

### **Identificación por medios bioquímicos, (anexo 5)**

#### **a) Agar hierro tres azúcares (TSI)**

##### **Fundamento:**

Determina la capacidad de un microorganismo de fermentar los hidratos de carbono presentes en el medio de crecimiento básico con producción o no de gas. La fermentación provoca acidificación del medio con viraje del indicador (rojo de fenol) al amarillo. Permite detectar la producción del sulfuro de hidrógeno por ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro ferroso (Malbrán, 2011).

##### **Procedimiento:**

Con una aza de colle con punta se seleccionó una colonia del agar Mc Conkey, se inoculo en la superficie del pico de flauta con estría y el fondo por punción en el TSI. Se Incubó a 37°C, se dio lectura luego de 18 - 24 horas de incubación.

##### **Interpretación:**

La Fermentación de azúcares es específico de cada bacteria, las reacciones que pueden observarse para *Escherichia coli* son:

- Pico alcalino (rojo) / fondo ácido (amarillo). Glucosa fermentada. Lactosa y sacarosa no fermentadas.
- Pico ácido (amarillo) / fondo ácido (amarillo). Glucosa fermentada. Lactosa y/o sacarosa fermentadas.

Producción de gas: Se evidencia por la aparición de burbujas o fragmentación del medio.

#### **b) Utilización de Citrato**

##### **Fundamento:**

Determina si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo, produciendo alcalinidad. El medio Citrato de Simmons contiene también sales de amonio inorgánicas como única fuente de nitrógeno. Las sales de amonio se desdoblan en amoníaco con la consiguiente alcalinidad. El indicador de pH usado es el azul de bromotimol, el cual en medio alcalino toma un color azul intenso, indicando una prueba positiva. El medio no inoculado tiene color verde (Malbrán, 2011).

**Procedimiento:**

Se usó la misma colonia para todos los medios diferenciales. Se inoculó la superficie del pico de flauta con estría, se incubó a 37°C durante 48 horas

**Interpretación:**

Para *Escherichia coli* la prueba es negativa: el medio conserva el color verde original y hay ausencia de desarrollo bacteriano.

**c) Sulfuro, indol y movilidad (SIM)****Fundamento:**

Permite detectar la producción de indol que es producto de la degradación metabólica del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa son capaces de hidrolizar y desaminar el triptófano con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco. El indol desdoblado de la molécula de triptofano puede ser detectado cuando reacciona con el grupo aldehído del para-dimetilamino benzaldehído del reactivo revelador (reactivo de Kovacs), formándose un complejo de color rojo.

Permite detectar la producción del sulfuro de hidrógeno por ennegrecimiento del medio debido a la formación de sulfuro ferroso.

Determina si el microorganismo es móvil por migración a partir del lugar de siembra y se disemina en el medio provocando turbidez (Malbrán, 2011).

**Procedimiento:**

Se sembró por punción única en la región central del tubo, utilizando una aguja recta hasta una profundidad de 2/3 del medio, luego se incubó a 37°C durante 18 - 24 h. después del tiempo se agregó 2 ó 3 gotas del reactivo de Kovacs para detección del indol.

**Interpretación:**

Sulfuro de hidrógeno: Prueba positiva: Se observa ennegrecimiento del medio.  
*Escherichia coli* es negativa

Indol: *Escherichia coli* es positiva: color rojo fucsia en la interfase del reactivo y el medio.

Movilidad:

- Prueba positiva: Se visualiza turbidez parcial o total del medio.
- Prueba negativa: Hay crecimiento bacteriano solamente en la línea de siembra.

#### d) Lisina, Hierro y Agar (LIA)

##### Fundamento:

Detecta la capacidad de un microorganismo de decarboxilar la lisina. Las decarboxilasas son enzimas que actúan sobre los grupos carboxilo de los aminoácidos produciendo aminas, de reacción alcalina. Cada una de las decarboxilasas es específica para un aminoácido. La lisina puede ser decarboxilada transformándose en cadaverina. Esto produce un viraje del indicador púrpura de bromocresol al violeta. Como la decarboxilación sólo tiene lugar en medio ácido (pH inferior a 6), es necesario que se produzca previamente la acidificación del medio de cultivo, por fermentación de la glucosa. Por este motivo este medio de cultivo sólo debe utilizarse para la diferenciación de cultivos que fermentan la glucosa. Los microorganismos que no producen lisina decarboxilasa pero que son fermentadores de la glucosa, producen un viraje del medio al amarillo (Malbrán, 2011).

##### Procedimiento:

Se inoculó la superficie del pico de flauta con estría y el fondo por punción, se incubó a 37°C durante 18-24 horas.

##### Interpretación:

*Escherichia coli* produce decarboxilación de la lisina:

- Prueba positiva: pico violeta / fondo violeta
- Prueba negativa: pico violeta / fondo amarillo

Desaminación de la lisina:

- Prueba positiva: pico pardo rojizo / fondo amarillo

#### 3.5.2 Confirmación fenotípica de la producción de betalactamasas de espectro extendido.

##### Sinergia de doble disco

La prueba se basa en el uso de una cantidad constante del antimicrobiano, que está impregnado en el papel filtro, el cual al ser aplicado sobre la superficie del medio en el que previamente se ha sembrado el microorganismo en cuestión. El disco amoxicilina / ac. Clavulánico hace que los demás antimicrobianos recuperen su sensibilidad precisamente porque las BLEEs son inhibidas por el ácido clavulánico lo cual se manifiesta por el efecto sinérgico (efecto tapón de corcho) de los antimicrobianos

aztreonam, ceftazidima, ceftoaxima y ceftriaxona que se colocan alrededor del ácido clavulánico 20mm de distancia (Jarlier & cols,1988).

### **Procedimiento**

Se preparó el inóculo de cepa pura del medio bioquímico diferencial TSI se tocó la parte superior de cada colonia con el aza, transfiriendo luego las colonias a un frasco con suero fisiológico estéril, y se estandarizó el inóculo con el patrón de turbidez 0,5 Mc Farland, con una absorbancia entre el 0,08 a 0,09 para enterobacterias que presenta una concentración bacteriana de  $1,5$  a  $2 \times 10^8$  UFC/ mL, antes de realizar la siembra en agar Mueller Hinton, homogenizamos el inóculo, luego introducimos un hisopo estéril en la suspensión haciendo rotar el hisopo presionando en las paredes del tubo para eliminar el excedente, por encima del nivel del líquido, luego se sembró suavemente sobre la superficie del medio en tres direcciones, haciendo girar la placa Petri en cada siembra en un ángulo de  $65^\circ$  permitiendo una distribución homogénea del inóculo en agar (Torrico & Trigoso, 2003).

La aplicación de discos de susceptibilidad antimicrobiana fueron extraídos del refrigerador dos horas antes para que adquieran temperatura ambiente. Los discos se colocaron un disco de amoxicilina/ácido clavulánico en el centro de una placa de Petri, y alrededor de este se colocaron discos de CAZ, CRO, CTX, CPO y ATM a 20 mm de distancia del disco central presionando ligeramente sobre disco para que no se despegue, el disco no debe ser removido, pues inmediatamente se difunde el antimicrobiana; en seguida, se incubaron las placas de agar en forma invertida en estufa de incubación a  $35^\circ\text{C}$  por 18 a 24 horas (Torrico & Trigoso, 2003). La presencia de BLEE se manifiesta por el efecto sinérgico del inhibidor bajo la forma de ampliación del halo en uno o varios de los  $\beta$ -Lactámicos

### **3.5.3 Determinación de la resistencia de cepas de Escherichia coli productoras de BLEEs a antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos**

**Técnica:** prueba de difusión Kirby - Bauer.

**Fundamento:**

Este método de susceptibilidad a los antimicrobianos por difusión, se basa en el uso de una cantidad del antimicrobiano, que está impregnado en un reservorio de papel filtro, el cual al ser aplicado sobre la superficie del medio en el que previamente se ha sembrado el microorganismo en cuestión, forma por difusión un gradiente de concentración del antimicrobiano, cuya sensibilidad está indicada por el tamaño del halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco (Torrico & Trigoso, 2003).

**Procedimiento:****Preparación del inóculo de placas de agar, aplicación de discos de antibióticos e incubación (Torrico & Trigos, 2003).**

Se utilizó los microorganismos las cepas pura de medio TSI en cultivos con más de 24 horas de incubación, Se seleccionaron de 3 a 5 colonias aisladas y de la misma morfología, se tocó la parte superior de cada colonia con el asa, transfiriendo luego las colonias a un frasco de suero fisiológico estéril, y se estandarizó el inóculo con el patrón de turbidez 0,5 Mc Farland.

**Turbidez estándar de McFarland****Fundamento**

Se trata de una serie de patrones de turbidez previamente calibrados. Consiste en varios tubos de vidrio herméticamente cerrados que contienen 1% de  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  + cantidades crecientes de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 1%; por lo tanto, en cada tubo se origina un precipitado de  $\text{SO}_4\text{Ba}$ , origen de la turbidez. Para cada cepa bacteriana hay que establecer la equivalencia entre la turbidez de cada tubo y la masa o la concentración de bacterias (en céls/ml) que genera una turbidez similar (Torrico & Trigos, 2003).

**Preparación**

La turbidez estándar de 0,5 en la escala de Mc Farland. Se preparó añadiendo 0,5 ml de cloruro de una solución de bario deshidratado ( $\text{Cl}_2\text{Ba} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) a 99,5 ml de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). La turbidez estándar se dividió en alícuotas, se colocó en tubos de prueba idénticos a aquellos utilizados para preparar la suspensión del inóculo. La exactitud de la densidad de la turbidez estándar de Mc Farland preparada se comprobó mediante un espectrofotómetro con un paso de luz de 1 cm; para la turbidez estándar de 0,5 de Mc Farland, la absorbancia de una longitud de onda de 625 nm debe ser de 0,08–0,1 (Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos), se sella los tubos de turbidez estándar de Mc Farland con cera, parafilm u otros medios para prevenir la evaporación. La turbidez estándar de Mc Farland se puede guardar hasta 6 meses en la oscuridad a temperatura ambiente (22–25°C); se descarta después de 6 meses o antes si pierde algún volumen (se marcó el tubo para indicar el nivel del líquido y verifique antes de utilizarlo para estar seguro que no ha ocurrido evaporación, si esto ocurre, debe prepararse una turbidez estándar fresca.) Antes de utilizar, agite bien el tubo que contiene la turbidez estándar, de manera que el precipitado blanco fino de sulfato de bario se mezcle en el tubo.

2. La estandarización del inóculo se realizó con el patrón de turbidez, una suspensión de bario 0,5 de la escala de Mc Farland nos da una concentración bacteriana de 1,5 a  $2 \times 10^8$  UFC/ ml.
3. Antes de realizar la siembra en el medio de cultivo Mueller Hinton, se homogenizó el inóculo, introduciendo un hisopo estéril en la suspensión, hace rotar el hisopo presionando en las paredes del tubo para eliminar el excedente (por encima del nivel del líquido) luego sembrar suavemente sobre la superficie del medio.
4. La siembra se realizó en tres direcciones, haciendo girar la placa Petri en cada siembra en un ángulo de  $65^\circ$ , esto permitirá una distribución homogénea del inóculo en el agar.
5. Previo a la utilización de los discos de antimicrobianos, fueron extraídos del refrigerador dos horas antes para que adquieran la temperatura ambiente. Se colocaron los discos sobre el agar no debe ser removido, pues inmediatamente difunde el antimicrobiano sobre el agar.
7. Una vez colocado el disco sobre el agar no debe ser removido, pues inmediatamente difunde el antimicrobiano sobre el agar.
8. Después de colocar los discos, se incubaron las placas de agar en forma invertida en estufa de incubación a  $35^\circ\text{C}$

#### **Medición de halos de inhibición.**

La medición de los halos de inhibición se realizó con una regla sosteniendo la placa Petri en forma invertida, sobre un fondo oscuro y con luz reflejada (Torrico & Trigos, 2003).

#### **Interpretación de los resultados**

Para la interpretación de los halos de inhibición encontrados se utilizó las tablas del CLSI Enero 2009 M 100-S 19 Vol. 29 N°3

#### **3.6 Método estadístico**

La información recogida en la ficha clínica, fueron procesadas en la hoja electrónica del programa estadístico SPSS V.12.0, las variables se tabularon en frecuencias absolutas y porcentuales. Se utilizó la prueba no paramétrica de Ji cuadrado ( $\chi^2$ ) para comparar las posibles diferencias de la multirresistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en pacientes que asisten al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, mediante la siguiente fórmula:

$$t_c^2 = \sum_{i=1}^c \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Dónde:

$t_c^2$  : Ji-cuadrado calculada.

$O_i$  : Frecuencias observadas de la i-ésima columna.

$E_i$  : Frecuencias esperadas de la i-ésima columna

El nivel de confianza fue del 95% ( $\alpha = 0,05$ ), las hipótesis a probarse fue la existencia de diferencias significativas de los grados de resistencia, entre antibióticos utilizados. Como valor esperado se consideró un 50% de muestras que se espera que muestren resistencia.



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

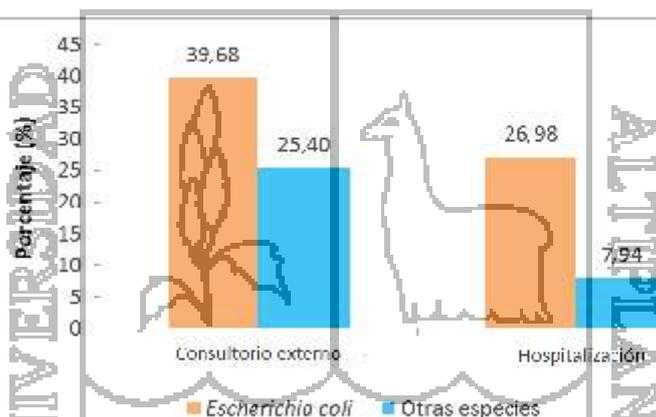
### 4.1 Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) a antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos.

Se realizó la toma de muestra de orina a 63 pacientes que asistieron al Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de la ciudad de Puno, considerando el ambiente en que se encontraban los pacientes, en la siguiente tabla se muestran los resultados.

**Cuadro 1.** Uropatógenos aislados en pacientes que asisten al Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de la ciudad de Puno

Ambiente	Consultorio Externo		Servicios de Hospitalización		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Uropatógenos						
<i>Escherichia coli</i>	25	39,68	17	26,98	42	66,67
Otras especies	16	25,40	5	7,94	21	33,33
Total	41	65,08	22	34,92	63	100,00

Fuente: elaboración propia



**Gráfico 1.** Uropatógenos aislados en pacientes que asisten al Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de la ciudad de Puno

En el cuadro 1 y gráfico 1, en Consultorio Externo se tomaron 41 muestras (65,08%), de las cuales 25 (39,68%) resultaron cultivos positivos a *Escherichia coli* y las restantes 16 (25,40%) correspondieron a otras especies. En el ambiente de Hospitalización se tomaron 22 muestras (34,92%), de las cuales 17 (26,98%) resultaron cultivos positivos a *Escherichia coli* y las restantes 5 (7,94%) correspondieron a otras especies. En total de los 63 urocultivos realizados, en 42 muestras (66,67%) se aisló a *Escherichia coli* y en 21 muestras (33,33%) se observó a *Klebsiella* spp. (13,68%), *Proteus* spp. (10,24) y *Enterobacter* spp (9,41).

Los resultados del presente estudio, coincide con Chambi (2009) quien señala que este patógeno fue el más frecuente en un 93,96% corresponde a *Escherichia coli*, al igual que

Gonzales *et al.* (2008) que aislaron un 76% son *E. coli* similar a lo reportado por Rosas (2006) en su estudio fue el 82,6% fue *E. coli*.

En el Hospital Regional Manuel Núñez Butrón *Escherichia coli* es el uropatógeno más frecuente 42 (66,67%) entre las enterobacterias que causan infecciones del tracto urinario y las otras especies es poco frecuentes. Que mediante sus adhesinas fimbriadas se ligan típicamente a los receptores de las periuretrales y constituye el principal factor condicionante de la colonización inicial de la mucosa vesical.

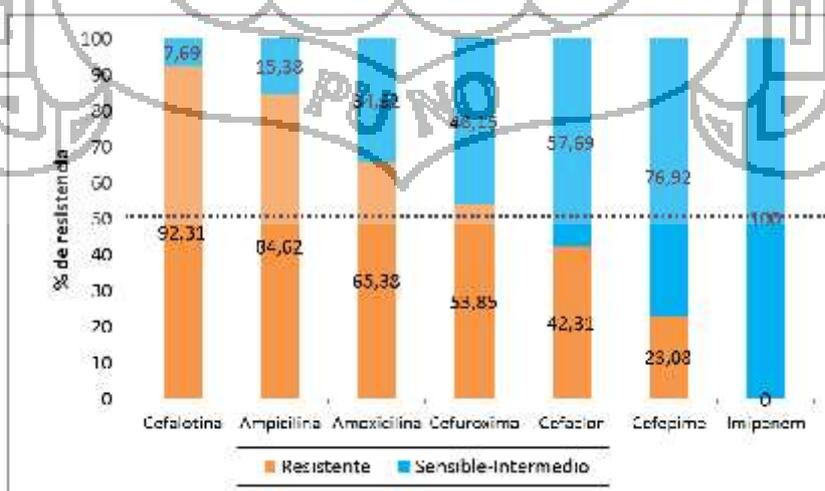
**4.1.1 Resistencia de Escherichia coli a antimicrobianos betalactámicos**

En las siguientes tablas se muestra los resultados de la evaluación de la resistencia de *Escherichia coli* tanto para antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos, las pruebas de resistencia se realizaron con 26 muestras que correspondieron a *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido.

**Cuadro 2.** Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos

Resultado	Resistente		Sensible Intermedio		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Ant. Betalactamico						
Cefalotina	24	92,31	2	7,69	26	100,00
Ampicilina	22	84,62	4	15,38	26	100,00
Amoxicilina	17	65,38	9	34,62	26	100,00
Cefuroxima	14	53,85	12	46,15	26	100,00
Cefaclor	11	42,31	15	57,69	26	100,00
Cefepime	6	23,08	20	76,92	26	100,00
Imipenem	0	0,00	26	100,00	26	100,00

Fuente: elaboración propia  $t_c^2 = 130 > t_{t(r:0.05;gl:6)}^2 = 12.59 (P < 0.05)$



**Gráfico 2.** Resistencia porcentual de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos

En el cuadro 2 y gráfico 2, para Cefalotina *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido presentó resistencia en 24 muestras (92,31%), para Ampicilina en 22 (84,62%), para Amoxicilina mostró resistencia en 17 (65,38%), para Cefuroxima en 14 (53,85%), para Cefactor presentó resistencia en 11 (42,31%), para Cefepime en 6 (23,08%), para Imipenem no mostró resistencia.

La resistencia observada en *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido los porcentajes de resistencia frente a cefalotina en este estudio fue de 92,31%, casi similar a lo reportado por Chambi (2009) que reportó un 64,8% de resistencia. Seguido de ampicilina y amoxicilina con una resistencia de 84,62% y 65,38% respectivamente, similar a lo reportado por Morales *et al.* (2005) con una resistencia de 80,3% para ampicilina y Chambi (2009) reportó 85,2%; en cuanto a la amoxicilina Murillo *et al.*, (2006), reportaron un 61,1% de resistencia similar a lo reportado en este estudio. TEM-1 es la enzima responsable de la resistencia observada a ampicilina, si la producción es de alto nivel entonces la bacteria será resistente a ampicilina, cefalotina y cefazolina (Pujol, 2003), al igual que las enzimas TEM con fenotipo BLEEs.

En cuanto a la cefuroxima y cefaclor que son cefalosporina de segunda generación se obtuvo un porcentaje de resistencia en un 53,85% y 42,31% respectivamente. La resistencia observada se debe a la presencia de betalactamasas TEM, SVH o CTX-M de espectro extendido como TEM-12, SVH-2 según Solorzano (2004), en cambio Chávez (2002), no descarta la sobreproducción de SVH-1 en algunas cepas que hidrolizan cefuroxima.

Frente a las cefalosporina de cuarta generación, presentaron una resistencia cefepime de 23,1%, siendo similar a lo reportado por Peroso *et al.* (2007) con una resistencia de 20,0%, sin embargo cefepime es más resistente a la hidrólisis enzimática, (Katsung, 2005), por ende se sospecha de cefepime no son afectadas por las betalactamasas y, además, estos antibióticos son más permeables y atraviesan más rápidamente el espacio periplásmico donde están ubicadas las betalactamasas se menciona también que cefepime es activo contra muchas cepas productoras de BLEEs particularmente de enzimas derivadas de SHV (Morales, 2003). Imipenem presenta una resistencia de 0% se debe a que este antimicrobiano en su característica molecular N-formidoiltienamicina es hidroxietilo-trans y esto hace que presente estabilidad a las betalactamasas además de poseer fuerte afinidad con las PBP de las bacterias (Céspedes & Portal, 1998).

Por lo tanto se concluye que existe diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) para los porcentajes de resistencia, los antimicrobianos betalactámicos: Cefalotina, Ampicilina, Amoxicilina y Cefuroxima que presentaron una resistencia superior al 50% de las muestras, mientras

que para los antibióticos Cefaclor, Cefepime, Imipenem la resistencia fue menor al 50% de las muestras, por lo cual se acepta de que existe una diferencia estadística en el grado de resistencia que presenta *E. coli* frente a los antibióticos betalactámicos.

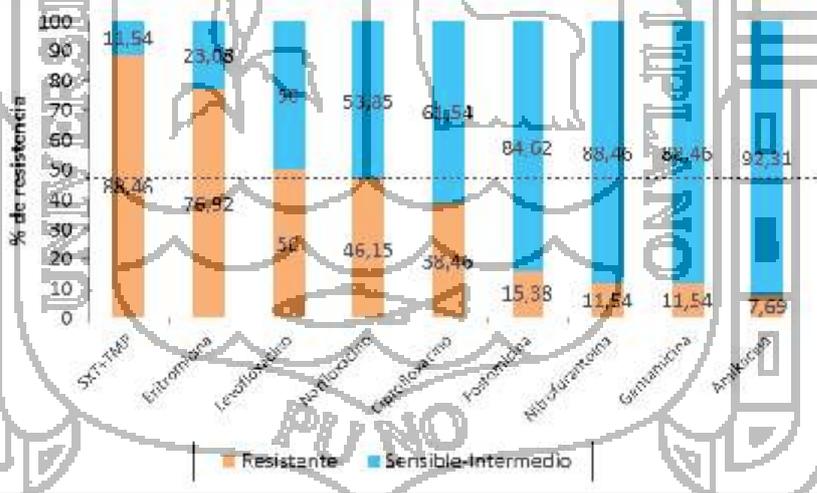
**4.1.2 Resistencia de Escherichia coli a antimicrobianos no betalactámicos**

**Cuadro 3.** Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos

Resultado	Resistente		Sensible-Intermedio		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
A. No betalactamico						
SXT+TMP	23	88,46	3	11,54	26	100,00
Eritromicina	20	76,92	6	23,08	26	100,00
Levofloxacino	13	50,00	13	50,00	26	100,00
Norfloxacino	12	46,15	14	53,85	26	100,00
Ciprofloxacino	10	38,46	16	61,54	26	100,00
Fosfomicina	4	15,38	22	84,62	26	100,00
Nitrofurantoina	3	11,54	23	88,46	26	100,00
Gentamicina	3	11,54	23	88,46	26	100,00
Amikacina	2	7,69	24	92,31	26	100,00

Fuente: elaboración propia

$$t_c^2 = 165 > t_{t(r:0.05;g;8)}^2 = 15.5 (P < 0.05)$$



**Gráfico 3.** Resistencia porcentual de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos

En el cuadro 3 y gráfico 3, *E. coli* para el antimicrobiano SXT+TMP presenta resistencia en 23 muestras (88,46%), para Eritromicina en 20 (76,92%), para Levofloxacino en 13 (50%), para Norfloxacino en 12 (46,15%), para Ciprofloxacino en 10 (38,46%), para Fosfomicina en 4 (15,38%), para Nitrofurantoina en 3 (11,54%), para Gentamicina en 3 (11,54%) y para Amikacina en 2 (7,69%).

*E. coli* productora de BLEEs presentó resistencia frente a trimetoprim-sxt en un 88,46%; algo similar reportado por Peroso *et al.* (2007) en 75%; así mismo Muzachiodi *et al.* (2005) reportaron resistencia en un 78,6%. Esta elevada resistencia puede estar asociado a que este antibiótico es muy utilizado por los pacientes y lo toman sin receta médica y el tipo de infección en el paciente dependiendo de la edad y sexo (Jawetz, 1995) y también estudios demuestran que *E. coli* es productora de CTX – M (cefotaximasas) que es un tipo de BLEEs el cual confiere corresponsencia a este antimicrobiano. Eritromicina presentó resistencia de 76,92% utilizado terapéuticamente para la infección de tracto urinario no encontrándose reportes con otros autores, esta resistencia se debe a la codificación codificarse por plásmidos (Katzung, 2010).

En cuanto a las quinolonas (levofloxacino, norfloxacino y ciprofloxacino) que presentaron una resistencia de 50%, 46,15% y 38,46% respectivamente no coincidiendo con Choquehuanca (2008) que reportó resistencias 93,9%, 91,7% y 96,15% respectivamente esto es debido a que estos antibióticos no son inductores de la producción de las betalactamasas ya que presentan otra estructura química (Pujol, 2003). Se menciona que BLEEs tipo AMP - C se codifican en plásmidos portadores de genes de resistencia, suelen llevar otras resistencias múltiples para quinolonas, sulfamidas, aminoglucóidos, tetraciclina y trimetopim (Jacoby & Muñoz-Price, 2005).

Los antibióticos que obtuvieron menor resistencia fueron la fosfomicina, nitrofurantoina y los aminoglucóidos con una resistencia de 15,38%, 11,54% y entre gentamicina y amikacina 11,54% y 7,69% respectivamente coincidiendo equivalentemente con Caro *et al.* (2007) reportaron similares porcentajes de resistencia. La resistencia a los aminoglucóidos se debe a las enzimas modificantes de aminoglucóidos codificadas por plásmidos; este menor porcentaje de resistencia se debe también a otras BLEEs tipo VEB-1 esta enzima en su secuencia de aminoácidos confiere alto nivel de resistencia que esta mediada por plásmidos a antimicrobianos no betalactámicos (Jacoby & Muñoz-Price, 2005).

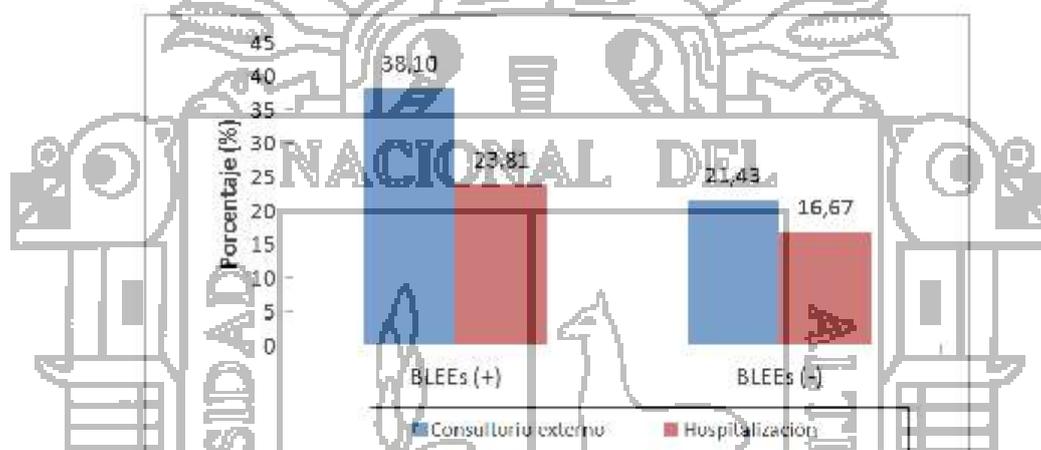
Por lo tanto se concluye que existe diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) para los porcentajes de resistencia a los antimicrobianos no betalactámicos: SXT+TMP, Eritromicina y Levofloxacino que presentaron una resistencia superior al 50% de las cepas *E. coli*, mientras que para los antibióticos Norfloxacino, Ciprofloxacino, Fosfomicina, Nitrofurantoina, Gentamicina y Amikacina, la resistencia fue menor al 50% de las muestras. Por lo cual se acepta de que existe una diferencia significativa en el grado de resistencia que presenta *E. coli* frente a los antibióticos no betalactámicos.

**4.2 Determinación de la resistencia antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) procedente de muestras de servicio del hospital y consulta externa.**

**Cuadro 4.** Presencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes que asisten al Hospital Regional MNB – Puno

Tipo	BLEEs (+)		BLEEs (-)		Total	
	N	%	N	%	N	%
C. Externo	16	38,10	9	21,43	25	59,52
Hospitalización	10	23,81	7	16,67	17	40,48
Total	26	61,90	16	38,10	42	100,00

BLEEs, betalactamasas de espectro extendido  $t_c^2 = 0.115 < t_{(r:0.05;gl:1)}^2 = 3.84$  (P>0.05)



**Gráfico 4.** Presencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes que asisten al Hospital Regional MNB – Puno

En el cuadro 4 y gráfico 4, en Consultorio externo se identificó 16 muestras (38,10%) que correspondieron a BLEEs positivos, mientras que para el ambiente de Hospitalización se identificó 10 muestras (23,81%) a BLEEs positivos. En total se determinaron 26 muestras (61,90%) BLEEs positivos, el resto de muestras 16 (38,10%) resultaron BLEEs negativas.

La confirmación fenotípica de la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) a partir de las cepas aisladas de *E. coli* fue de 26 cepas (61,9%), los resultados son similares a los reportados por Morales (2003) quien reportó el 63,2% de BLEEs positivos. No coincidiendo con Chambi (2009) quien reportó un 28,9% de BLEEs y Muzachiodi *et al.* (2005) que fue de 39,8% de cepas BLEEs.

Las diferencias encontradas respecto a la producción de BLEEs como un mecanismo de resistencia entre 28,9% a 61,9% determinadas en diferentes estudios puede estar determinado al uso excesivo de antimicrobianos betalactámicos específicamente a las cefalosporinas de amplio espectro y el aztreonam (Patterson, 2003)

Los resultados del presente estudio demuestran que *E. coli* es productor de BLEEs en más del 50% de toda la población muestral y además que las cepas aisladas de consultorio externo muestran más porcentaje de productor de BLEEs que de cepas de servicios hospitalarios, lo cual evidencia que existe el uso indiscriminado de antimicrobianos por parte de la población.

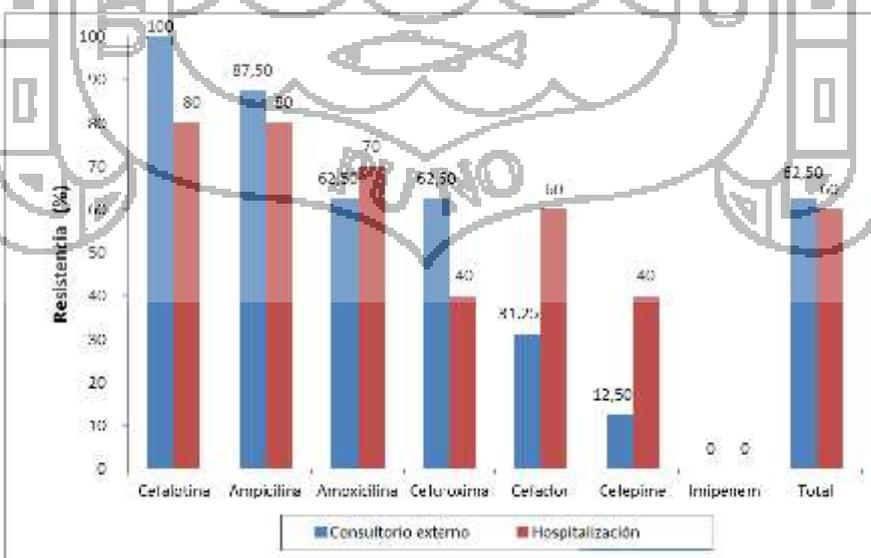
#### 4.2.1 Resistencia de *Escherichia coli* a antimicrobianos betalactámicos

De las 26 muestras identificadas como BLEEs positivos, se analizó los resultados según el ambiente del que provenía el paciente, resultando 16 muestras del ambiente de Consultorio Externo y 10 del ambiente de Hospitalización, los resultados se muestran para antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos.

**Cuadro 5.** Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos según ambiente

Ambiente	Consultorio externo		Hospitalización	
	Nº	%	Nº	%
Ant. Betalactámico				
Cefalotina	16	100,00	8	80,00
Ampicilina	14	87,50	8	80,00
Amoxicilina	10	62,50	7	70,00
Cefuroxima	10	62,50	4	40,00
Cefaclor	5	31,25	6	60,00
Cefepime	2	12,50	4	40,00
Imipenem	0	0,00	0	0,00
Mediana	10	62,50	6	60,00

Fuente: elaboración propia  $t_c^2 = 51 > t_{(r=0.05;gl:6)}^2 = 12.59$  ( $P < 0.05$ )



**Gráfico 5.** Resistencia (%) de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos según ambiente

En el cuadro 5 y gráfico 5 se observa que para muestras de consultorio externo los antimicrobianos que son resistentes fueron cefalotina con 100%, ampicilina 87,50% y cefuroxima 62,50% y para servicios del hospital mostraron resistencia a amoxicilina 70%, cefaclor 60% y cefepime 40%. Para ambos imipenem mostró 0,00% de resistencia.

La resistencia antimicrobiana encontrada según procedencia de la muestra a los antimicrobianos betalactámicos en consultorio externo y servicios del hospital no hay relación entre los antimicrobianos de cuales fueron más resistentes esto es debido a que las cepas tienen diferentes mecanismos de resistencia (Caro *et al.*, 2007).

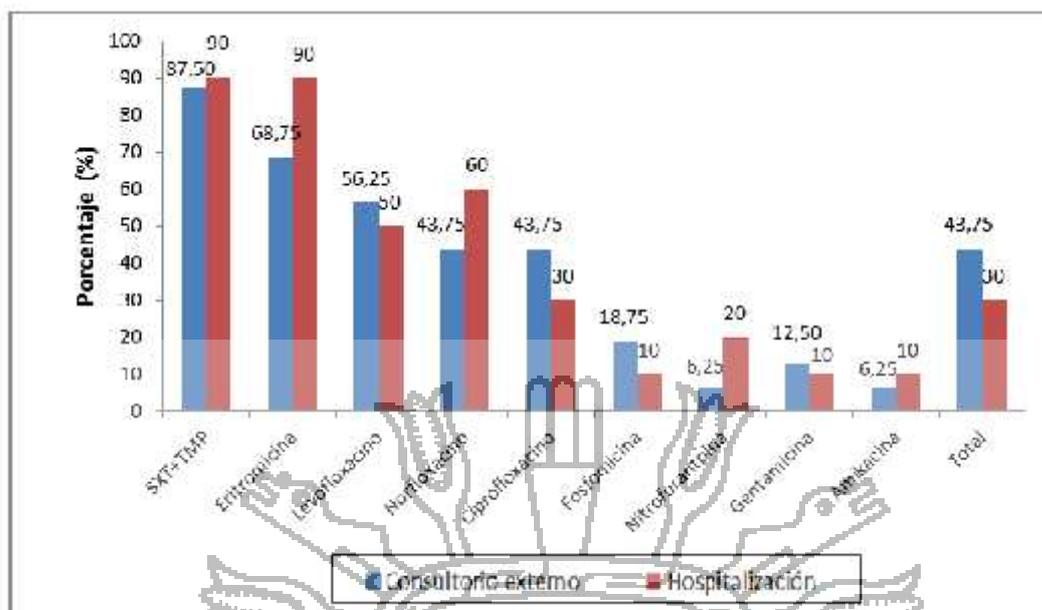
En conclusión se encontró diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) para los porcentajes de resistencia, los antimicrobianos betalactámicos: Cefalotina, Ampicilina, y Cefuroxima presentaron una resistencia superior en muestras de Consultorio externo, por el contrario los antibióticos Amoxicilina, Cefaclor y Cefepime la resistencia fue superior en muestras del ambiente de Hospitalización, por lo cual se acepta de que existe una diferencia estadística en el grado de resistencia que presenta *E. coli* según el ambiente del que proviene las muestras.

#### 4.2.2 Resistencia de *Escherichia coli* a antimicrobianos no betalactámicos

**Cuadro 6.** Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos según ambiente

Ambiente	Consultorio externo		Hospitalización	
	Nº	%	Nº	%
No betalactámico				
SXT+TMP	14	87,50	9	90,00
Eritromicina	11	68,75	9	90,00
Levofloxacino	9	56,25	5	50,00
Norfloxacino	7	43,75	6	60,00
Ciprofloxacino	7	43,75	3	30,00
Fosfomicina	3	18,75	1	10,00
Nitrofurantoina	1	6,25	2	20,00
Gentamicina	2	12,50	1	10,00
Amikacina	1	6,25	1	10,00
Mediana	7	43,75	3	30,00

Fuente: elaboración propia  $t_c^2 = 35 > t_{t(r:0.05;gl:8)}^2 = 15.5 (P < 0.05)$



**Gráfico 6.** Resistencia (%) de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos según ambiente.

En el cuadro 6 y gráfico 6 se observa que para muestras de consultorio externo los antimicrobianos que fueron más resistentes fueron levofloxacino con 56,25%, ciprofloxacino 43,75%, fosfomicina 18,75%, gentamicina 12,50% y para servicios del hospital mostraron más resistencia a SXT-TMP 90%, eritromicina 90%, norfloxacino 40%, nitrofurantoina 20% y amikacina 10%.

Los datos observados es equivalente a lo reportado por Gonzáles *et al.* (2008) donde mostraron una sensibilidad para pacientes no hospitalizados a amikacina 93,4%, nitrofurantoina 88,6% y ciprofloxacino 44,5%, en tanto a los hospitalizados mostraron sensibilidad a amikacina 88,89% nitrofurantoina 75,26% y ciprofloxacino 26,04%; en tanto Caro *et al.* (2007), reportaron porcentajes de sensibilidad de 20,9%, gentamicina 84,5%, nitrofurantoina 83,6%, fosfomicina 89,1% y TMP-SXT 44,5% coincidiendo ambos autores con resultados similares a los encontrado por este estudio en cuanto a la sensibilidad.

Por lo tanto se concluye que existe diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) para los porcentajes de resistencia según el ambiente del que provenía la muestra, los antimicrobianos no betalactámicos: SXT+TMP, Eritromicina, Norfloxacino, Nitrofurantoina y Amikacina presentaron un mayor porcentaje de resistencia en muestras del ambiente de Hospitalización; los antibióticos: Levofloxacino, Ciprofloxacino, Fosfomicina y Gentamicina presentaron mayor resistencia en muestras provenientes del ambiente de Consultorio Externo, por lo cual se acepta de que existe una diferencia estadística en el porcentaje de resistencia que presenta *E. coli* frente a los antibióticos no betalactámicos según el ambiente de origen de la muestra.

## V. CONCLUSIONES

La multiresistencia del uropatogeno *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido (BLEEs) es elevada frente a los antimicrobianos betalactámicos los cuales presentaron más resistencia a Cefalotina en 24 muestras (92,31%), para Ampicilina en 22 (84,62%), para Amoxicilina mostró resistencia en 17 (65,38%), para Cefuroxima en 14 (53,85%), y para Imipenem no mostró resistencia. Para los antimicrobiano no betalactámicos presentaron más resistencia a SXT+TMP con 23 muestras (88,46%), para Eritromicina en 20 (76,92%), y para el grupo de quinolonas, aminoglucósidos y otros antibióticos presentaron una resistencia que va desde 7,69% - 50%. Ambos grupos de antimicrobianos con ji-cuadrado muestran significancia ( $P < 0,05$ ).

Las muestras provenientes de hospitalización son más resistentes que las provenientes de consultorio externo. Se encontró con ji-cuadrado significancia ( $P < 0,05$ ) para los porcentajes de resistencia, tanto para los antimicrobianos betalactámicos y no betalactámicos.



## VI. RECOMENDACIONES

Al personal de laboratorio hacer un seguimiento de los antimicrobianos utilizados para antibiograma y elaborar e implementar esquemas de tratamiento adecuados para las cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido no solo de urocultivos sino también de todas las muestras biológicas.

Difundir el estudio en instituciones de salud pública y privadas, porque son de importancia para el tratamiento adecuado, es el caso de cefalotina ya no se debe utilizar en el HRMNB en el tratamiento de infecciones urinarias.

A los egresados implementar el estudio con más número de muestras tanto servicio hospitalario y consultorio externo tomando como factores sexo y de qué servicio procede la muestra.



## VI. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- Andreu, A., Alos J.I. & Barrera T. (2005). "Etiology and antimicrobial susceptibility among uropathogens causing community-acquired lower urinary tract infections: a nationwide surveillance study]." *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Vol. 23, Nº. 1: p. 4-9.
- ABC medicus. "Antibióticos más utilizados en urología". Última publicación: diciembre de 2001. Bogotá Colombia. Recuperado a partir de: Dirección: [www.abcmedicus.com/articulo/id/38/pagina/3/antibioticos\\_urologia.html](http://www.abcmedicus.com/articulo/id/38/pagina/3/antibioticos_urologia.html) (Consulta: 27 Nov 2011).
- Avellaneda JM. & Pecho G. (2002). Estudio de la resistencia a los antibacterianos en el centro médico naval de enero a diciembre del 2000 Buenos Aires, Argentina. Enero. Recuperado a partir de: [http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/avellaneda\\_m\\_j/disusion](http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/avellaneda_m_j/disusion) (consulta: 13 Enero 2012).
- Baquero F., Negri MC. & Morosini MI. (1998). Antibiotic- Selective Enviroments. *CID*; Vol. 27: p. 5-11.
- Barreto G., Campal A., Abreu O. & Velázquez B. (2001). El bloqueo de la Adhesión Fimbrial como opción terapéutica. *Rev. Prod. Anim*. Vol 13 Nº. 1: p. 71 – 83.
- Blanc V. (2007) Caracterización de cepas y plásmidos de *Enterobacteriaceae* portadores de betalactamasas de espectro extendido. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, Departamento de Genética y de Microbiología, 214p.
- Bradford, PA. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*; Vol. 14: p. 933-51.
- Base de datos del Departamento de Estadística e Informática del Ministerio de Salud. (2003). Recuperado a partir de: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Tesis/Salud/Avellaneda\\_M\\_J/Generalidades.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Tesis/Salud/Avellaneda_M_J/Generalidades.pdf). (Consulta: 09 oct. 2011).
- Bergey's. (2005). *Manual of Determinative Bacteriology*. Editor-in-chief: Garrity, George Brenner, Don J.; Krieg, Noel R.; Staley, James R. Ninth edition.
- Bush K., Jacoby GA. & Medeiros AA. (1995). A functional classification scheme for Betalactamasas and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*; Vol 39: p. 1211-1233.
- Brooks G., Butel J. & Morse S (2005). *Microbiología de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 18a edición. Editorial Manual Moderno. España, 786 p.
- Camacho L., Perozo A., Castellano M., Bermúdez E. & Harris B. (2004). Métodos Fenotípicos para la detección de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, ene, vol. 24, nº 1-2: p. 98- 103.

- Caro N.M.R., Hernando R.S., Carrero G.P & García C.S. (2007). "Estudio de la multirresistencia antibiótica de *Escherichia coli* en urocultivos". Med Clin (Barc); Vol. 129, Nº. 11: p. 409-11.
- Cavaliere J. & Coyle M.B. (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Editora Coordinadora: MARIE B. COYLE. Departments of Laboratory Medicine and Microbioloy, University of Washington, Seattle Washington 98195, 242 p.
- Céspedes V.A. & Portal G.P. (1998) "Actualidad y perspectivas de la farmacología de drogas antibacterianas". Instituto Superior de Medicina.
- Cordies J.L., Machado, R. LA., & Hamilton, C. ML. (1998). "Principios generales de la terapéutica antimicrobiana". Revista médica cubana. Habana Cuba. Última publicación: 8 de enero de 1998. Recuperado a partir de: Dirección: [www.bvs.sld.cu/revista/act/vol\\_18\\_1\\_98/act03198](http://www.bvs.sld.cu/revista/act/vol_18_1_98/act03198). (Consulta: 27 Set 2011).
- Chambi Q.M. (2009). Resistencia de uropatógenos gram negativos productores de betalactamasas de espectro extendido en pacientes que asisten al Hospital EsSalud Juliaca. Tesis para obtener el título de licenciado en Biología. 8 p. Universidad Nacional del Altiplano, FCCBB. Esp. Microbiología
- Choquehuanca A.H. (2008). Resistencia de uropatógenos gram negativos a las quinolonas en pacientes que asisten al Hospital EsSalud Juliaca. Tesis para obtener el título de licenciado en Biología. 10 p. Universidad Nacional del Altiplano, FCCBB. Esp. Microbiología
- Dancer SU. (2001) The problem with cephalosporins. J. Antimicrob Chemother; Vol. 48: p. 463-478.
- Escobedo, ME. (2002). Estudio de la Resistencia a los Antibacterianos. Mayo. Recuperado a partir de: [http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/avellaneda\\_m\\_j/referenciabib.htm](http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/avellaneda_m_j/referenciabib.htm). (Consulta: 18 Dic 2011)
- Emery, CL. & Weymouth, LA. (1997) Detection and clinical significance of extended-spectrum Betalactamases in a tertiary medical center. J Clin Microbiol; Vol. 35: p. 2061-7.
- Farmer J & Kelly MT. (1991). (En Balows A, et al, comps. Manual of Clinical Microbiology. *Enterobacteriaceae*. p. 360-383. 5 ed. USA: ASM. XI+ P. 1364).
- Forbes B. & Sahm D. (2004) Diagnostico Microbiológico Bailey & Scott. 11ava edición. Editorial Medica Panamericana S.A. Buenos Aires-Argentina, 1115 p.
- Gupta, V. (2007). An update on newer beta-lactamases. Indian J Med Res. Vol. 126, Nº 5: p. 417-27.
- Gobernado, M. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases on the rise. EspQuimioter. Vol.18, Nº.2: p. 115-7.
- Gonzáles, T, Romero, GT & Lino, K. (2008). Infecciones del tracto urinario en el hospital general Cayetano Heredia, enero – junio 179 p.

- Hernández, J. R., Martínez – Martínez L. & Macedo P. (2005). "Nationwide study of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain." *Antimicrob Agents Chemother*. Vol. 49, Nº 5: p. 2122-5.
- Hernández, J. R., Pascual A., Canton R., Martínez - Martínez & grupo de infección hospitalaria (GEIH). (2003). "Extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in spanish hospitals (GEIH-BLEE Project 2002)]." *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Vol. 21, Nº 2: p. 77-82.
- liczyszyn, G. & Hurí J. (1999). Resistencia Antimicrobiana. Publicación de Análisis y Unidades de Tendencias. Noviembre. Recuperado a partir de: <http://www.healthing.com/infecciones/congreso.html>.(Consulta: 18 Dic 2011).
- Jacoby, GA. & Medeiros AA. (1991). More extended spectrum Betalactamases. *Antimicrob Agents Chemother*; Vol.35: p. 1697-1704.
- Jacoby, G. A. & Muñoz-Price L. S. (2005). "The new beta-lactamases." *N Engl J Med* Vol.352, Nº 4: p. 380-91.
- Jawetz E., Melnick & Adelberg. (1995). *Microbiología Médica*. 15va Edición. Editorial El Manual Moderno S.A. de CV. México DF. 250, 252 p.
- Jawetz E, Melnick & Adelberg. (1987). *Microbiología Médica*. 12 ed. México: El Manual Moderno SA de CV. México DF. 636 p.
- Jacoby GA & Han P. (1996). Detection of extended-Spectrum betalactamases in clinical isolates of *Klebsiella pnemoniae* and *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol*; Vol. 34: p. 908-11.
- Kauffman C, E. (2004) IVU: Etiología y patrón de resistencia/sensibilidad en pacientes atendidos en el servicio de ginecología del HEODRA, durante el período 20 de Junio 2002 – 28 de Octubre del 2004.
- Knothe, H., Shah P. & Linton AH. (1983). "Transferable resistance to cefotaxime, ceftaxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*." *Infection*. Vol. 11, Nº 6: p. 315-7.
- Levison, M. E. (2002). "Plasmid-mediated Extended-spectrum beta-Lactamases in Organisms Other Than *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*: A Hidden Reservoir of Transferable Resistance Genes." *Curr Infect Dis Rep*. Vol. 4, Nº 3: p. 181-183.
- Livermore, D.M. (1995). "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." *Clin MicrobiolRev*. Vol. 8, Nº 4: p. 557-84. Vol. 8, Nº 4: p. 307-12.
- Lujan G, Macedo J & Redo H. (2002), frecuencia y susceptibilidad de patógenos aislados en infección del tracto urinario en una clínica local Lima – Perú. 186 p.
- Malbrán, C.G. (2011). Manual de procedimientos "diagnóstico y caracterización de STEC O157 y no O157 a partir de especímenes clínicos. Servicio de fisiopatogenia, departamento de bacteriología INEI-ANLIS. 153 p.

- Matheu, J. (2003). Detección de Betalactamasas por medio del Antibiograma. Laboratorio Nacional de salud. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Guatemala. Septiembre.
- Mandell, G.L., Bennett J. E. & Clein G. (2005). "Principles and practice of infectious diseases." Vol. 2: p. 2567-2586.
- Mandell, G., Bennett J., Dolin R. (2004) Enfermedades infecciosas principios y práctica. 5ta. edición. Editorial Medica – Panamericana. Buenos Aires – Argentina, 1877 p.
- Mandell, Bennett & Douglas. (1997). Enfermedades Infecciosas. Principios y Prácticas. Cuarta edición. Editorial Panamericana. 544 – 580 p.
- Martínez, C., Cambronero J. A., & Senovilla J. L. (1997). Fisiopatología de la infección urinaria. Clínicas Urológicas de la Complutense, 5. 51-64. Servicio de Publicaciones, UCM, Madrid, España, 51-64 p.
- Martínez, P.J., Espinal P. A., Bustos A. & Mattar S. (2005) Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productores de betalactamsas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería. Colombia. MedUNAB; Vol. 8, N° 1: p. 15-22
- Mins C., Playfair J., Roitt J., Wakelin D., Williams R. & Anderson R. (1995) Microbiología Médica. Editorial Mosby/ Doyma libros. Madrid-España.
- Morales J.L., Reyes K., Monteghirfo M., Roque M. & Ireyet J. (2005) Presencia de Betalactamasas de espectro extendido en dos hospitales de Lima, Perú. An Fac Med Lima; Vol. 66, N° 1: p. 24-32.
- Muzachiodi M.I. & Ferrero S.M. (2005) Incidencia de enterobacterias productores de betalactamasas de espectro extendido. Universidad Nacional Del Nordeste, Argentina. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen: M-135. 4 p.
- Matthew, M., Hedges R. W. & Parker T. (1979). "Types of beta-lactamase determined by plasmids in gram-negative bacteria." *JBacteriol* Vol. 138, N° 3: p. 657-62.
- Murillo, O.A. (2006). uso de antibióticos en infección de vías urinarias en una unidad de primer nivel de atención en salud, Bogotá, Colombia. Rev. Salud publica v.8 n.2 Bogotá Jul.
- Patterson, J. E. (2003). "Extended-spectrum beta-lactamases." *Semin Respir Crit Care Med*. Vol 24 N° 1: p. 79-88.
- Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, Ko WC, Goossens H & Von Gottberg A. (2000). Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis*; Vol. 30: p. 473-8.
- Pérez A. (2003). Identificación y Determinación de los Patrones de susceptibilidad Antibiótica de enterobacterias, Aisladas de Muestras Clínicas de Pacientes Internos en el Hospital "San Juan de Dios". Universidad de San Carlos de

- Guatemala. (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 76p, (24-26).
- Peroso A., Castellano M., Ginestre M. & Harris B. (2007). Caracterización molecular y detección de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* aisladas en las unidades de cuidados intensivos de un Hospital Universitario, Kasma; Vol. 35, Nº 2: p. 91-106.
- Peroso A., Castellano M., Ginestre M. & Harris B. (2009) Detección de betalactamasas de espectro extendido en cepas de la familia de Enterobacterias. Kasma; Vol. 35, Nº 2: p. 91-106
- Philippon, A., Labia R. & Volk J. (1989). "Extended - spectrum beta-lactamases." Antimicrob Agents Ch
- Pujol M. (2003). El Significado Clínico de las Betalactamasas de Espectro extendido. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona. España. Recuperado a partir de: <http://www.sciam.com/2003/0398issue/0398pujol.html>. (Consulta: 05 feb. 2012).
- Rayo MO. & Rodríguez NE. (1999). Enterobacterias con Betalactamasas de Espectro Extendido: Su importancia como Patógenos Nosocomiales. Instituto de Patología Infecciosa y Experimental Dr. Francisco Ruiz Sánchez, Centro Universitario de Ciencias de La Salud, Universidad de Guadalajara; Infectología, Hospital Civil de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. México. Febrero.
- Sacsquispe CR. & Velásquez PJ. (2002). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco difusión. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- SERVICIO NACIONAL DE METEOROLOGÍA E HIDROLOGÍA DEL PERÚ (SENAMHI). (2012). Clima del departamento de Puno. Recuperado a partir de [www.de.senamhi.gob.pe/site/dr13/?p1500&idNota02....03](http://www.de.senamhi.gob.pe/site/dr13/?p1500&idNota02....03) (Consulta 22 junio 2012).
- SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MEDICINA PREVENTIVA - SEMP. (2002). Estudio EPINE sobre infección nosocomial (I): Nuevos factores hacen predecir un aumento en las infecciones 2002.
- Solórzano A. (2004) Betalactamasas de espectro extendido en nuestro medio: aportaciones científicas. (Tesis doctoral). Universidad de Granada, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología. Editorial de la Universidad de Granada, 403 p.
- Susic, E. (2004). "[Mechanisms of resistance in Enterobacteriaceae towards beta-lactamase antibiotics]." ActaMedCroatica.
- Torrice E. & Trigoso C. (2003). Manual de Procedimientos y Control de Calidad Interno Metodo de Kirby Bauer. LA PAZ: OPS/OMS, 58 p.
- Usein Codrita – Romanita & Tatu – Chitoiu D. (2001). Prevalence of Virulence genes in *Escherichia coli* strain isolated from Romanian adult urinary tract infection cases. JCell Mol Med; Vol. 3: p. 303 -310.

Vergara, J. (1993). Tratamiento de la infección urinaria. Revista chilena, vol 44, N° 6

Walther-Rasmussen, J. & Hoiby N. (2004). "Cefotaximases (CTX-M-ases), an expanding family Vol. 50, N° 3: p. 137-65. of extended-spectrum beta-lactamases." CanJMicrobiol.

Wilson W.R. (2002). Diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas. Editorial Manual Moderno, México D.F. – Santa Fe Bogotá, 1098 p.





## ANEXO 1

## Resultados de análisis estadístico

Prueba de Ji-cuadrado para: cuadro 2. Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos

Chi-cuadrado observado)	ajustado (Valor	130
Chi-cuadrado ajustado (Valor crítico)		12,59
GDL		6
p-valor		<0,05
Alfa		0,05

Interpretación de la prueba:

H0: Las columnas de la tabla son independientes.

Ha: Hay una diferencia entre las columnas de la tabla.

Como el p-valor computado es menor que el nivel de significación  $\alpha=0,05$ , se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

Prueba de Ji-cuadrado para: cuadro 3. Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos

Chi-cuadrado ajustado (Valor observado)	165
Chi-cuadrado ajustado (Valor crítico)	15,5
GDL	8
p-valor	<0,05
Alfa	0,05

Interpretación de la prueba:

H0: Las columnas de la tabla son independientes.

Ha: Hay una diferencia entre las columnas de la tabla.

Como el p-valor computado es menor que el nivel de significación  $\alpha=0,05$ , se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

Prueba de Ji-cuadrado para: cuadro 5. Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos betalactámicos según ambiente

Chi-cuadrado ajustado (Valor observado)	51
Chi-cuadrado ajustado (Valor crítico)	12,59
GDL	6
P-valor	<0,05
Alfa	0,05

Interpretación de la prueba:

H0: Las columnas de la tabla son independientes.

Ha: Hay una diferencia entre las columnas de la tabla.

Como el p-valor computado es menor que el nivel de significación  $\alpha=0,05$ , se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

Prueba de Ji-cuadrado para: Tabla 6. Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente al número de antimicrobianos betalactámicos según ambiente

Chi-cuadrado ajustado (Valor observado)	96
Chi-cuadrado ajustado (Valor crítico)	9,5
GDL	4
p-valor	<0,05
Alfa	0,05

Interpretación de la prueba:

H0: Las columnas de la tabla son independientes.

Ha: Hay una diferencia entre las columnas de la tabla.

Como el p-valor computado es menor que el nivel de significación  $\alpha=0,05$ , se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

Prueba de Ji-cuadrado para: cuadro 7. Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente a antimicrobianos no betalactámicos según ambiente

Chi-cuadrado ajustado (Valor observado)	35
Chi-cuadrado ajustado (Valor crítico)	15,5
GDL	8
p-valor	<0,05
Alfa	0,05

Interpretación de la prueba:

H0: Las columnas de la tabla son independientes.

Ha: Hay una diferencia entre las columnas de la tabla.

Como el p-valor computado es menor que el nivel de significación  $\alpha=0,05$ , se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

Prueba de Ji-cuadrado para: cuadro 8. Resistencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido frente al número de antimicrobianos no betalactámicos según ambiente

Chi-cuadrado ajustado (Valor observado)	296
Chi-cuadrado ajustado (Valor crítico)	9,5
GDL	4
p-valor	<0,05
Alfa	0,05

Interpretación de la prueba:

H0: Las columnas de la tabla son independientes.

Ha: Hay una diferencia entre las columnas de la tabla.

Como el p-valor computado es menor que el nivel de significación  $\alpha=0,05$ , se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

**ANEXO 02**  
**FICHA CLINICA**

**I. DATOS PERSONALES**

Nombres y Apellidos:..... N° de mx:.....  
 Edad:.....Sexo:.....Estado civil:.....  
 Diagnóstico clínico:.....  
 Método empleado en la recolección de la muestra:.....  
 Paciente: hospitalario ( ) consulta externa ( ) embarazada ( )

**II. ANALISIS DE LABORATORIO**

Cultivo :.....  
 Germen aislado:.....Recuento de colonias:.....UFC/MI.  
**ANTIBIOGRAMA**

Antimicrobianos	Sensible	Intermedio	Resistente	BLEEs
Nitrofurantoina				
Gentamicina				
Amikacina				
Trimetroprim- sulfametoxazol				
Imipenem				
Ampicilina				
Fosfomicina				
Ilevofloxacino				
Ciprofloxacino				
Tetraciclina				
Cefazolina				
<b>Ceftriaxona</b>				
Cefuroxima				
Cefepime				
Cefalotina				
<b>ceftazidima</b>				
<b>Cefotaxima</b>				
<b>Aztreonam</b>				

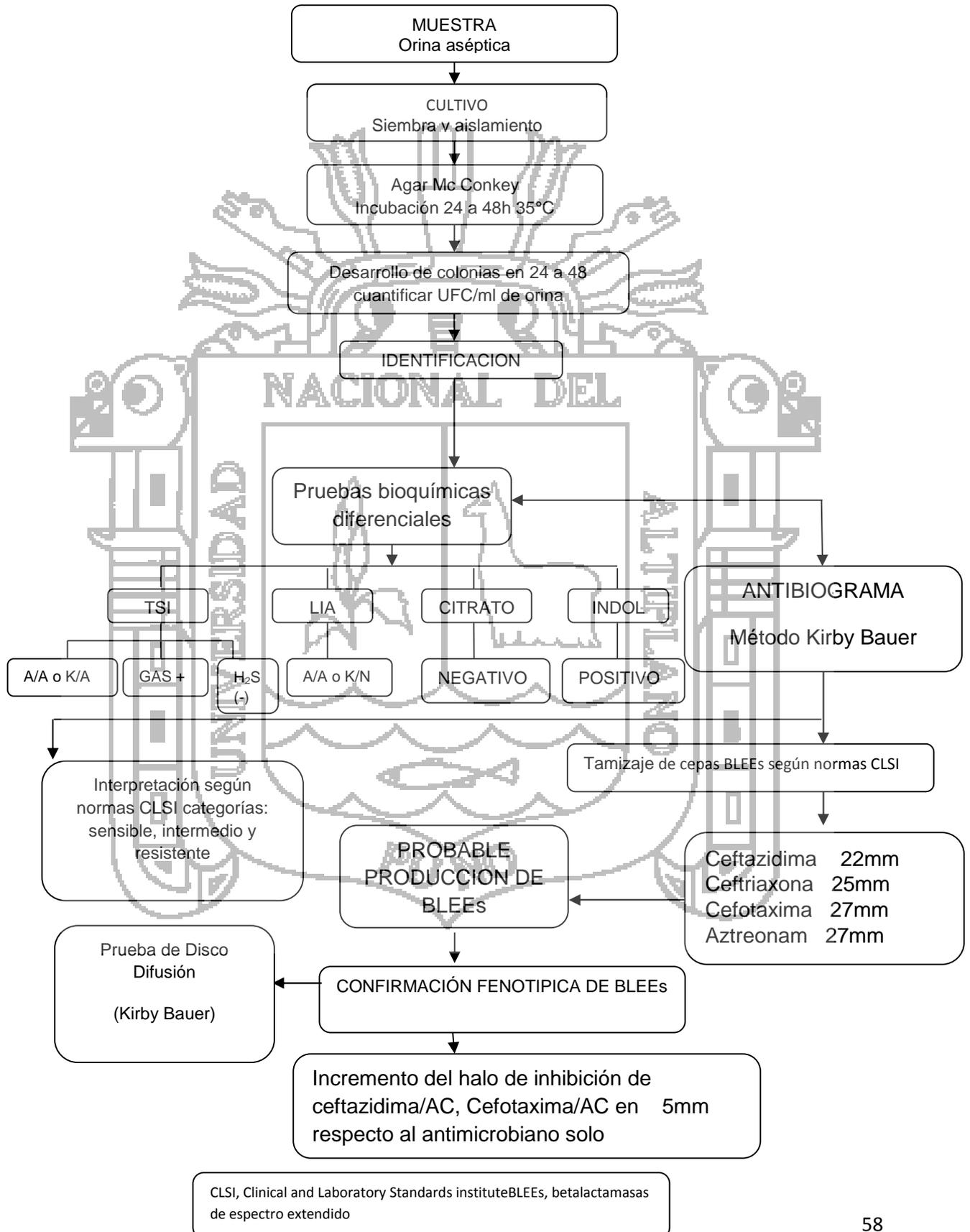
**TAMIZAJE Y CONFIRMACION FENOTIPICA DE BLEEs**

Betalactamico	Sinergismo	Confirmación de BLEEs**
Ceftriaxona		
Ceftriaxona/Ac. Clavulánico		
Ceftazidima		
Ceftazidima/AC. Clavulánico.		
Cefotaxima		
Cefotaxima/Ac. Clavulánico		
Aztreonam/Ac. Clavulánico		

(\*) Halo de inhibición, Ceftriaxona 25mm, Ceftazidima 22mm, Cefotaxima 27mm y Aztreonam 27mm.  
 (\*\*) Halo de inhibición, 5mm del betalactámicos combinado frente al betalactámicos individual.

ANEXO 03

Flujograma de aislamiento, identificación, detección y confirmación de *Escherichia coli* uropatógena productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs)



Cuadro de operativización de variables			
Variable independiente	Dimensiones	Indicador	Criterios de evaluación
Escherichia coli uropatógena	Escherichia coli uropatógena productora de betalactamasas de espectro extendido	Prueba inicial de detección de CLSCs	Dímetros críticos de antibiótico
		Cefotaxima (30 ug) Ceftriaxona (30 ug) Cefotaxima (30 ug) Aztreonam (30 ug)	Cefotaxima <2mm Ceftriaxona <2mm Cefotaxima <2mm Aztreonam <2mm
		prueba de confirmación fenotípica de CLSCs Cefotaxima (30 ug) Cefotaxima Ac. clavulánico (30 ug) 10 ug Ceftriaxona (30 ug) Cefotaxima Ac. clavulánico (30ug) 10ug	Aumento del diámetro circular de inhibición en $\pm$ 5mm cefalosporinas de tercera generación combinado con ceftalosporinas de tercera generación beta clavulánico
antimicrobianos betalactámicos	penicilinas de amplio espectro	Ampicilina	Punto 0 fúsculo $\leq$ 15 mm, 14-16 mm, $\geq$ 17 mm
	betalactámicos de 1ra generación	Piperacilina	$\leq$ 14 mm, 15-16 mm, $\geq$ 17 mm
		Cefotaxima	$\leq$ 14 mm/15-16 mm, $\geq$ 17 mm
		Cefuroxima	$\leq$ 14 mm/15-22 mm, $\geq$ 23 mm
		Cefepime	$\leq$ 13 mm, 14-20 mm, $\geq$ 21 mm
		Ceftriaxona	$\leq$ 14 mm, 15-17 mm, $\geq$ 18 mm
antibióticos no betalactámicos	Mandobagán	Aztreonam	$\leq$ 10 mm, 10-21 mm, $\geq$ 22 mm
	Carbapenem	Imipenem	$\leq$ 10 mm, 14-15 mm, $\geq$ 16 mm
	Aminoglicosidos	Amikacina	$\leq$ 14 mm/10-16 mm, $\geq$ 17 mm
		Gentamicina	$\leq$ 12 mm, 13-14 mm, $\geq$ 15 mm
		Netilmicina	$\leq$ 14 mm, 15-16 mm, $\geq$ 18 mm
		Streptomizina	$\leq$ 15 mm, 15-20 mm, $\geq$ 21 mm
antibióticos no betalactámicos	Tetraciclinas	$\leq$ 14 mm/15-18 mm, $\geq$ 19 mm	
	Trimetoprim- sulfametoxazol	$\leq$ 14 mm/16-18 mm, $\geq$ 17 mm	
		Fosfomicina	$\leq$ 10 mm/11-16 mm, $\geq$ 16 mm
			$\leq$ 12 mm, 13-16 mm, $\geq$ 16 mm
Variable dependiente			Ampicilina $\leq$ 14 mm Piperacilina $\leq$ 14 mm Cefotaxima $\leq$ 14 mm Cefuroxima $\leq$ 14 mm ceftriaxona $\leq$ 10 mm Cefepime $\leq$ 14 mm Cefotaxima $\leq$ 14 mm Ceftriaxona $\leq$ 14 mm Cefepime $\leq$ 14 mm Aztreonam $\leq$ 15 mm Imipenem $\leq$ 13 mm Amikacina $\leq$ 14 mm Gentamicina $\leq$ 12 mm Levofloxacilo $\leq$ 11 mm Ciprofloxacilo $\leq$ 15 mm Tetraciclinas $\leq$ 14 mm Nitrofurantoina $\leq$ 14 mm Trimetoprim- sulfametoxazol $\leq$ 11 mm Fosfomicina $\leq$ 12 mm
Pacientes con urocultivo positivo a Escherichia coli uropatógena productora de betalactamasas de espectro extendido con resistencia antimicrobiana betalactámicos y no betalactámicos	hospitalización	Halc de inyección para bacterias uropatógenas según CLSI	
	Consulta externa		

ANEXO 05

Reacciones bioquímicas de enterobacterias

<b>GRUPO I HIDRÓGENO SULFURADO (H<sub>2</sub>S) POSITIVOS</b>					
<b>ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)</b>					
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA
K/A	--	± ó +	K / K	--	<i>Salmonella typhi</i>
<b>AEROGENICOS (GAS POSITIVO)</b>					
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA
K/A	2+	4+	K/K	--	<i>Salmonella</i>
K/A ó A/A	2+	4+	K/K	--	<i>Arizona</i>
K/A ó A/A	2+	4+	K/A	--	<i>Citrobacter</i>
K/A ó A/A	2+	4+	R/A	-- ó +	<i>Proteus</i>
K/A	2+	4+	K/K	+	<i>Edwardsiella</i>
<b>GRUPO II HIDRÓGENO SULFURADO (H<sub>2</sub>S) NEGATIVOS</b>					
<b>ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)</b>					
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA
K/A	--	--	K/A	-- ó +	<i>Shigella</i>
A/A ó K/A	--	--	K/K ó K/A	+	<i>Escherichia</i>
A/A ó K/A	--	--	K/A	-- ó +	<i>Enterobacter</i>
A/A	--	--	K/K	--	<i>Serratia</i>
K/A	--	--	R/A	+	<i>Proteus</i>
K/A	--	--	R/A	+	<i>Providencia</i>
A/A	--	--	A/A ó K/A	± ó +	<i>Yersinia</i>
<b>AEROGENICOS (GAS POSITIVO)</b>					
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA
A/A ó K/A	2+	--	K/K ó K/A	+	<i>Escherichia</i>
A/A	4+	--	K/K	-- ó +	<i>Klebsiella</i>
A/A ó K/A	3+	--	K/K ó K/A	--	<i>Enterobacter</i>
K/A ó A/A	2+	--	K/K	--	<i>Serratia</i>
K/A	(+)	--	K/A ó R/A	+	<i>Proteus</i>
K/A	+	--	K/A ó A/A	--	<i>Paratyphi A</i>

K= Alcalino

A= Acido

R= Rojo

N= Neutro

**ANEXO 06**

Foto de placa de prueba fenotípica de BLEEs por el método de sinergismo.

