



Universidad Nacional
Federico Villarreal

Vicerrectorado de
INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGIA MEDICA

**ESCHERICHIA COLI PRODUCTORA DE BLEE EN UROCULTIVOS – CLINICA
PRIVADA DE LIMA 2017**

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
TECNOLOGIA MEDICA EN LA ESPECIALIDAD LABORATORIO Y ANATOMÍA
PATOLOGICA**

AUTOR

López Portocarrero, Lizeth

ASESOR

Lazon Mansilla, David Félix

JUARADOS

Lagos Castillo, Moraima Angelica

Evangelista Carranza, Javier Artidoro

Prado Maggia, Carlos Toribio

Lima - Perú

2018

**ESCHERICHIA COLI PRODUCTORA DE BLEE EN UROCULTIVOS - CLINICA
PRIVADA DE LIMA 2017.**

López Portocarrero, Lizeth

DEDICATORIA

A los seres que más amo:

Mis padres, José Alfonso y María Celsa, por ser inspiración y amor

Mis hermanos Henry, Alan y Jarly por ser la base piramidal de mi vida

A ti por tu luz

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de tesis **Mg. David Félix Lazon Mansilla**, por orientarme, guiarme durante la elaboración de esta tesis.

A la **Mg. T.M. Moraima Angélica Lagos Castillo**, por sus consejos, su generosidad y por su disposición a la enseñanza.

Al **Dr. José María Guevara Duncan** por guiarme en el tan apasionante mundo de las betalactamasas

Al **Mg. Cesar Enrique Guerrero Barrantes**, por inculcar el amor al mundo de la microbiología, por ser inspiración como profesional y ser humano.

A todo el personal de salud; médicos, tecnólogos médicos y técnicos quienes me brindaron su apoyo en la recolección de datos.

INDICE

TÍTULO	2
DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4
RESUMEN	9
PALABRAS CLAVES	9
ABSTRACT	10
KEYWORD	10
INTRODUCCION	11
CAPÍTULO I DESCRIPCION DEL PLAN DE TESIS	13
1.1. Planteamiento del problema	13
Identificación y descripción del problema	13
Formulación de preguntas	14
Pregunta general.....	14
Preguntas específicas.....	14
1.2. Objetivos: general y específico	15
Objetivo general.....	15

Objetivos específicos.....	15
1.3. Justificación.....	16
1.4. Limitaciones.....	16
CAPÍTULO II MARCO TEORICO	17
2.1. Antecedentes.....	17
2.2. Bases teóricas	21
Enterobacterias.....	21
Escherichia coli.....	21
Infección del Tracto Urinario (ITU).....	23
Antibióticos betalactámicos.....	25
Mecanismo de acción.....	26
Clasificación y estructura.....	27
Resistencia a los betalactámicos.....	27
Mecanismos de resistencia.....	29
Betalactamasas.....	30
Clasificación de betalactamasas.....	31

Producción de betalactamasas.....	31
Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE).....	33
Epidemiología de las BLEEs.....	34
Métodos de detección de BLEEs.....	34
Test de Tamizaje: Método de disco difusión (Kirby-bauer).....	35
Prueba confirmatoria BLEE – Método de Jarlier.....	35
Técnica Confirmatoria BLEE: combinación de discos.....	35
Otras técnicas de confirmación de BLEEs.....	36
2.3. Hipótesis.....	37
2.4. Términos básicos.....	37
CAPÍTULO III.....	38
3.1. Tipo y diseño de estudio.....	38
3.2. Población y muestra.....	38
3.3. Variables y Operacionalización de variables.....	39
3.4. Recolección de datos: Instrumento.....	40
3.5. Procedimientos: Materiales y equipos.....	40
3.6. Procesamiento de datos.....	43

3.7. Aspectos éticos.....	43
CAPITULO IV RESULTADOS.....	44
CAPITULO V DISCUSIÓN, CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES.	47
DISCUSION.....	51
CONCLUSIONES.....	55
RECOMENDACIONES.....	56
CAPÍTULO V REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
ANEXOS.....	66
MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	71

RESUMEN

Con el objetivo de contribuir con la vigilancia de la resistencia a los betalactámicos, se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, cuantitativo y de diseño no experimental para determinar la prevalencia de *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de Espectro Extendido en una clínica particular de Lima en el año 2017. Se analizaron 357 urocultivos, los datos se obtuvieron del registro del área de microbiología, dando un total de 273 urocultivos positivos con 220 casos (80.6%) para *Escherichia coli* y con 53 casos (19.4%) para urocultivos positivos por otras bacterias. La prevalencia de *Escherichia coli* BLEE fue de 24% con respecto al total de urocultivos positivos y de 29.5% con respecto al total de urocultivos positivos con aislamiento de *E. coli*, resultando positivo 65 casos. Al clasificar la población según sexo, la prevalencia de *Escherichia coli* BLEE en el género masculino fue de 10.8% y en el género femenino de 89.2% y al distribuir dicha población total por grupo etario, se observó que prevaleció el grupo de adultos mayores (mayores de 60 años) con un 29% en el sexo femenino y con un 100% en el sexo masculino. Es recomendable el seguimiento de estudios epidemiológicos anuales, pero con un número mayor de población de distintas regiones, para un mejor conocimiento tanto de la prevalencia como también del perfil de sensibilidad antimicrobiana de los aislados de *E. coli* BLEE a nivel nacional.

PALABRAS CLAVE: Prevalencia, Urocultivos, Betalactamasas de Espectro Extendido.

ABSTRACT

In order to contribute to the surveillance of resistance to betalactamicos, a descriptive study of cross-sectional, quantitative and non-experimental design was conducted to determine the prevalence of *Escherichia coli* producing betalactamase of Extended spectrum in a particular clinic in Lima in the year 2017. We analyzed 357 urine cultures, the data were obtained from the Registry of the area of microbiology, giving a total of 273 up urine cultures positive with 220 cases (80.6%) for *Escherichia coli* and with 53 cases (19.4%) for positive urine cultures by other bacteria. The prevalence of *Escherichia coli* BLEE was 24% with regard to the whole of urocultivos positives and 29.5% with regard to the whole of urocultivos positives with *Escherichia coli* isolation, resulting positive 65 cases. When classifying the population according to sex, the prevalence of *Escherichia coli* BLEE in the male genus was 10.8% and in the female genus of 89.2% and when distributing the total population by age group, it was observed that the group of older adults prevailed (over 60 years) with 29% in female sex and 100% in male sex. It is advisable to follow annual epidemiological studies but with a greater number of population of different regions, for a better knowledge so much of the predominance as also of the profile of antimicrobial sensibility of the isolates of *E. coli* BLEE to National level.

KEYWORDS: Prevalence, Urine cultures, Betalactamasas of Extended Spectrum.

INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de antibióticos provoca en las bacterias diversos mecanismos de defensa que tienen como consecuencia final la resistencia a la acción antimicrobiana; uno de los principales es la producción de una enzima denominada betalactamasa que destruye el anillo betalactámico de antibióticos tales como penicilinas, a todas las cefalosporinas y al aztreonam, pero no a los carbapenemes ni a las cefamicinas ; produciendo la inactivación de los mismos; además son inhibidas por el ácido clavulánico.

La aparición y propagación de las bacterias que producen las enzimas Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) se han descrito en todo el mundo como punto crítico de urgencia debido a la alta propagación de estas cepas en diferentes tipos de infecciones, observando una prevalencia creciente en las infecciones del tracto urinario producida mayormente por las enterobacteriáceas, dentro de éstas con mayor prevalencia las cepas de *Escherichia coli*. (Winokur *et al.*, 2001; Mattar y Martínez, 2007)

Las infecciones con BLEE han experimentado importantes cambios epidemiológicos en los últimos tiempos y actualmente la atención se centra en el aumento de infecciones y colonizaciones en pacientes procedentes de la comunidad. La principal repercusión clínica de las BLEE parece ser la mayor frecuencia con la que estos pacientes con infecciones graves reciben un tratamiento empírico inadecuado (García *et al.*, 2011).

Según el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) anualmente las bacterias resistentes a los antibióticos causan más de dos millones de enfermedades y por lo menos 23000 muertes por la misma causa en este país, sobre todo en el medio hospitalario, donde hay una alta probabilidad de que surja más resistencia; así mismo,

estima que para el 2050, ocurran 10 millones de muertes atribuibles a la resistencia antimicrobiana, con lo que se convertiría en la principal causa de muerte.

Por la problemática antes explicada y siendo los antibióticos betalactámicos las drogas más utilizadas para el tratamiento de infecciones bacterianas tanto a nivel ambulatorio como a nivel hospitalario, se planteó el presente estudio a fin de generar conocimientos sobre la magnitud y distribución de este tipo de bacterias resistentes y contribuir en la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos.

CAPITULO I

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Identificación del problema

Las infecciones del tracto urinario son muy comunes en humanos y solo un limitado número de especies bacterianas son responsables de la mayoría de ellas.

La prevalencia de las I.T.U aumenta con la edad. Aproximadamente entre el 1-2% se presenta en mujeres de edad escolar y aumenta del 5 al 8% hacia los 20 años. Algunos factores que pueden incidir están el inicio de la actividad sexual y la morfología de la uretra en la mujer la cual es más corta, facilitando la penetración y colonización de gérmenes. (Sánchez.1998).

Debido a que las ITU causan importantes índices de morbilidad, la elección correcta del tratamiento en pacientes con infecciones del tracto urinario es trascendente, no solo por la salud de los pacientes sino porque son el 15% de las prescripciones de antibióticos en la comunidad. (Levy. 2007)

Sin embargo, la resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno evolutivo natural que puede verse acelerado por diferentes causas. Entre ellas, la más relevantes es el consumo excesivo e inadecuado de antibióticos ya que favorece la selección y difusión de cepas resistentes que provocan un aumento de fracasos terapéuticos (Martín. 2006).

Según la bibliografía consultada y estudios realizados en diferentes países, los microorganismos causantes de infecciones urinarias han presentado tasas de resistencia variables a los diferentes antibióticos usados como tratamiento, sobre todo a las betalactamasas que son los antibióticos más usados para el tratamiento de las infecciones bacterianas tanto a nivel ambulatorio como hospitalario. Además, en el Perú no hay un estudio integrado que indique los niveles de resistencia de los uropatógenos a los antimicrobianos, por esto, en este trabajo se

busca determinar la prevalencia de cepas de *Escherichia coli* productora de BLEE aisladas de los urocultivos de pacientes hospitalizados y ambulatorios de una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017 con el fin de generar conocimientos sobre la magnitud y distribución de este tipo de bacterias resistentes y contribuir con la vigilancia siendo éste uno de los objetivos del nuevo plan sobre AMR aprobado el 2015 por el Comité Regional de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el “ Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos en el período 2017 – 2021” y así instaurar un tratamiento empírico adecuado.

Formulación de las preguntas

Pregunta general:

- ¿Cuál es la prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE en urocultivos analizados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017?

Preguntas específicas:

- ¿Cuál es la prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE en urocultivos analizados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017 según el grupo etario?
- ¿Cuál es la prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE en los urocultivos analizados en una clínica privada de durante el periodo de enero a junio del 2017 según el género?
- ¿Cuál es la prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE aislados de urocultivos analizados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017 según la procedencia del paciente?

- ¿Cuál es el perfil de sensibilidad de los aislamientos de *Escherichia coli* BLEE positivos en los cultivos de orina analizados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017?

1.2. OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar la prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE en aislamientos de urocultivos realizados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017.

Objetivos específicos:

- Determinar la prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE en urocultivos analizados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017 según es el grupo etario.
- Calcular la prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE en urocultivos analizados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017 según el género.
- Determinar la prevalencia de *Escherichia coli* productora de BLEE en urocultivos analizados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017 según la procedencia de los pacientes.
- Valorar el perfil de sensibilidad de aislamiento de *Escherichia coli* BLEE positivos de urocultivos procesados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017.

1.3. JUSTIFICACION

En los últimos años, el problema de la resistencia bacteriana hacia los antibióticos betalactámicos se ha incrementado dramáticamente, como mencionamos anteriormente, a pesar de ser un fenómeno natural, este incremento en la resistencia bacteriana se ve acelerada por diferentes causas; entre ellas, la más relevantes es el consumo excesivo e inadecuado de antibióticos ya que va a favorecer la selección y difusión de cepas resistentes. Dentro de estas bacterias productoras de BLEEs están las cepas de *Escherichia coli*, agente causal principal en las infecciones del tracto urinario, por ende, resulta fundamental el estudio de estas cepas y su evolución en el tiempo, contribuyendo con la vigilancia de la resistencia a los betalactámicos y así instaurar un tratamiento empírico adecuado y evitar los fracasos terapéuticos, tal como lo recomienda La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) puesto que la resistencia antimicrobiana no sólo representa una importante carga en la salud de la población, sino también una importante carga económica para el país. Esto debido a los elevados costos de tratamientos más complejos y el manejo de posibles complicaciones.

1.4. LIMITACIONES

La realización del presente estudio evidenció algunas limitaciones de orden práctico y económico, como el no poder realizar el método de doble disco, método confirmatorio para cepas productoras de BLEE, por la falta de antibióticos combinados (Amoxicilina/cefalosporina 3°G) o aplicar un método confirmatorio automatizado y así correlacionar resultados con el método utilizado en este estudio (Test de Jarlier).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Once años después del descubrimiento de la acción antibacteriana de cultivos de *Penicillium* por A. Fleming (1929), Abraham y Chain publican dos estudios, en el primero el descubrimiento de la acción antibacteriana de hongos de Fleming fue ampliado en un producto apto para uso en seres humanos, demostrando así su eficacia clínica; sin embargo, el mismo año Abraham y Chain descubren una enzima producida por bacterias capaces de inactivar a la penicilina, descubrimiento así la primera betalactamasa. Esta primera β -lactamasa se identificó en *Escherichia coli* antes de la liberación de penicilina para uso en la práctica médica. (Abraham E.P y Chain E. 1940)

No es sorprendente que la resistencia a estos antibióticos de β -lactama de espectro expandido debido a β -lactamasas emergiera rápidamente. La primera de estas enzimas capaz de hidrolizar las β -lactamas más nuevas, SHV-2, se encontró en una única cepa de *Klebsiella ozaenae* aislada en Alemania. (Kliebe C. et al, 1985)

En los últimos 20 años, se han desarrollado nuevos antibióticos betalactámicos, diseñados específicamente para ser resistentes a la acción hidrolítica de las betalactamasas. Sin embargo, con cada nueva clase de antibiótico que se usa para tratar a los pacientes, emergen nuevas betalactamasas que causan resistencia como lo demuestran los estudios de Bradford P. A. (2001) y Paterson D, Bonomo R. (2005).

La aparición y propagación de las bacterias que producen las enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) se han descrito en todo el mundo como punto crítico de urgencia debido a la alta propagación de estas cepas en diferentes tipos de infecciones, y que los estudios

demuestran que se presenta mayormente en las enterobacterias y confieren resistencia a las penicilinas, a todas las cefalosporinas y al aztreonam, pero no a los carbapenemes ni a las cefamicinas, además la mayoría son inhibidas por el ácido clavulánico. Por ello las BLEE son un problema de salud pública con proporciones alarmantes de prevalencia en Latinoamérica que alcanza tasas preocupantes en Colombia, Guatemala, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile, Panamá y Brasil. Winokur et al. (2001); Máttar y Martínez, (2007).

Actualmente, se han descrito más de 150 BLEEs en diferentes géneros de *Enterobacteriaceae*. *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* son patógenos asociados a infecciones hospitalarias, especialmente en pacientes de la unidad de cuidados intensivos. Martinez PJ, Espinal P, Bustos A y Mattar S. (2005).

A nivel nacional, en el Perú, no se cuenta con una información integral de la real prevalencia de la resistencia antimicrobiana mediada por BLEE en enterobacteriáceas; sin embargo, existen varios estudios locales en diferentes hospitales y clínicas, entre los más destacados observamos una diferencia significativa en el porcentaje de prevalencias de *Escherichia coli* productora de BLEE.

En el año 2004 Astete, Flores, Buckley y Villarreal, realizaron un estudio descriptivo, retrospectivo de series de casos, donde aislaron de 327 urocultivos positivos, *Escherichia coli* 88,4% y *Enterococo spp.* 5,3% con una resistencia de *E. coli* en 25,2%, 69,8% y 61,4% para ceftriaxona, ciprofloxacina y gentamicina, respectivamente.

En el año 2006 Zavala E. realizó un trabajo cuantitativo descriptivo en el que determinó que el 81.89% de las enterobacterias estudiadas fueron productoras de BLEE.

Entre el año 2007 y 2008 Vásquez Del Aguila realizó un estudio descriptivo y retrospectivo en el Hospital Regional Docente de Trujillo, donde concluyó que *Escherichia coli*,

Staphylococcus saprofiticus, *Proteus vulgaris* y *Enterococcus sp* fueron los agentes etiológicos más frecuentes encontrados. De 88 urocultivos positivos, se aislaron *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus vulgaris* y *Enterococcus* en 91%, 6%, 2% y 1% respectivamente.

En el 2008 Gonzales, Jaulis, Tapia y Samalvides describieron la sensibilidad antibiótica de gérmenes prevalentes causantes de infecciones del tracto urinario en el Hospital Nacional Cayetano Heredia, concluyendo que la amikacina volvería a ser una buena opción como tratamiento empírico; así mismo encontraron un aumento en la resistencia a antibióticos comúnmente usados; sin embargo, antibióticos poco usados como la nitrofurantoina tuvieron mayores niveles de sensibilidad para *Escherichia coli*.

Abanto L. en el 2009, evaluó la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en 50 cultivos de *Escherichia coli* aislados de urocultivos determinando que la frecuencia de producción de estas enzimas fue de un 44%.

Angles *et al.* En el 2009 realizó un estudio en el Hospital Arzobispo Loayza (Lima), demostrando que la prevalencia de aislamientos positivos para *Escherichia coli* productora de BLEE fue del 77,8% y de 22,1% para *Klebsiella pneumoniae*; siendo las muestras de orina donde se aisló mayor cantidad de bacterias productoras de BLEE (83%).

Lezameta, Gonzáles-Escalante y Tamariz en el 2010 realizan un estudio comparativo de corte transversal analizando 147 cepas aisladas de urocultivos positivos para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* en el Instituto Nacional de Salud del Niño, encontrando que, de las 147 cepas, 43 (29,3%) resultaron sospechosas en las pruebas de tamizaje. Con el método descrito por *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* usado como patrón de oro para el estudio, resultaron 27 positivas (62,8%), resultado similar a lo

encontrado con el método de Jarlier. Por otro lado, con los métodos de Hodge y el tridimensional, 23 (53,5%) resultaron positivas. La evaluación de los métodos confirmatorios frente al descrito por CLSI, mostró una sensibilidad y especificidad de 100% para el método de Jarlier; en el caso de los métodos de Hodge y método tridimensional se encontró una sensibilidad y especificidad de 85,2 % y 100%, respectivamente.

En un estudio realizado el 2011 por Rivera M. *et al*, se evaluó a 45 cultivos de enterobacterias de importancia clínica, de los cuales 12 presentaron resistencia por BLEE a cefalosporinas de tercera generación y/o monobactámicos, cuatro *E. coli* y cuatro *E. cloacae* fueron los más relevantes.

Montenegro, Tafur, Díaz y Fernández en el 2014 realizaron un estudio de series de casos en muestras de urocultivos provenientes de los servicios críticos de un hospital público de Chiclayo, recolectando 82 urocultivos positivos de los cuales el microorganismo aislado más frecuente fue *E. coli* (32,9%), siendo la mayor resistencia microbiana a betalactámicos (96,7%) y la mayor sensibilidad a aminoglicósidos (50,8%).

En el 2016 Galván, Agapito, Bravo, Lagos y Tamariz en su estudio “Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β -Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú” encontraron que del total de urocultivos aislados de *E. coli* el 16,30% fueron productores de BLEE.

Como podemos observar en estos estudios, los rangos de aislamientos de *Escherichia coli* y dentro de éstas de las cepas productoras de BLEEs son amplias, predominando en muestras provenientes de pacientes hospitalizados; sin embargo, podemos observar también que desde el descubrimiento de las BLEE, las infecciones por enterobacterias productoras de estas enzimas han experimentado notables cambios epidemiológicos, evidenciando el aumento en pacientes

provenientes de la comunidad, es decir, ya no se limita a las infecciones y colonizaciones provenientes de los pacientes críticos hospitalizados; por esta nueva problemática y teniendo en consideración que los betalactámicos son los antibióticos más utilizados para el tratamiento de las infecciones bacterianas, se planteó el presente estudio orientado a determinar la prevalencia de *Escherichia coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivos en una clínica local de Lima.

2.2. Bases teóricas

Enterobacterias.

Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son bacilos o cocobacilos Gram negativos, se caracterizan fenotípicamente por ser no esporulados, no móviles o móviles por flagelos de inserción períttrica, anaerobios facultativos, oxidasa negativa, con requerimientos nutricionales relativamente simples (Koneman, 1999).

Los géneros principales incluidos en esta familia son: *Shigella*, *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Salmonella*, *Arizona*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Yersinia*, *Erwinia*, *Cedecea*, *Koserella*, *Arenilla* y *Tatumella* (Zwadyk, 1983).

Habitualmente colonizan las diferentes mucosas, especialmente las del tracto gastrointestinal y urinario, por lo que las infecciones suceden a partir de estas localizaciones.

Escherichia coli.

Escherichia coli es un bacilo corto gram negativo, mide aproximadamente 0.5- 1µm pertenece a la familia de *Enterobacteriaceae*, es anaeróbico facultativo, móvil por flagelos peritricos, no forma esporas o pueden tener cápsulas y ser inmóviles, *E. coli* es catalasa positiva, oxidasa negativa. La mayoría de las cepas fermentan la lactosa aunque algunas son fermentadoras lentas de este azúcar y algunas son anaerogénicas. Típicamente, la especie es Rojo Metilo positiva,

Voges Proskauer negativa y no crece en el medio de citrato de Simmons, produciendo indol la mayoría de las cepas. (Merino & Losch, s.f.).

Los elementos constitutivos de su estructura son cápsula, pared bacteriana, membrana externa, pili o fibrinas y flagelos peritricos (P. R. Murray, Rosentha, & Pfaller, 2009).

La cápsula está ubicada por fuera de la pared celular, tiene actividad antigénica y está formada por polisacáridos, origina una amplia gama de antígenos “K” (Stanchi, 2007; Murray, 2009). Mientras que la pared bacteriana está conformada por una membrana externa, una delgada capa de peptidoglucano y por un espacio periplásmico que recubre a la membrana citoplasmática (Stanchi, 2007).

La membrana externa ejerce protección contra la acción de las sales biliares y de los fermentos digestivos, está constituida por una doble capa lipídica, la cual contiene moléculas de liposacárido (LPS), estos azúcares además originan el antígeno somático “O” (Quinn *et al* 2011).

El peptidoglucano es una capa conformada por cadenas lineales de poliosidas unidas por péptidos (Merino, s.f.).

El espacio periplásmico posee enzimas que son necesarias para el metabolismo bacteriano (Tortora, Funke, & Case, 2007).

La membrana citoplasmática está formada por una doble capa fosfolipídica que regula el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas (Puerta & Mateos, 2010).

Las fimbrias o pili son estructuras proteicas filamentosas que sirven como adherencia, sin embargo, hay otros pilis llamados sexuales que ayudan al intercambio de material genético. Las Fimbrias también expresan antígenos denominados antígenos fimbriales “F” (Murray *et al.*, 2009).

Existen cepas de *Escherichia coli* que no presentan movilidad y por consiguiente, sin flagelos, por otro lado las cepas móviles poseen un grupo de antígenos proteicos constituyentes de los flagelos, denominados antígenos H (Murray *et al.*, 2009). Plásmidos y episomas son elementos genéticos que están conformados por secuencias de ADN, cortos y circulares que mantienen una replicación autónoma, poseen factores de resistencia a antibióticos y producen toxinas (Koneman & Allen, 2008).

Por lo expuesto anteriormente, la clasificación epidemiológica (serológica) de *Escherichia coli* se basa en 4 grandes grupos de antígenos: somáticos (O), capsulares (K), flagelares (H) y fimbriales (F) (Murray *et al.*, 2009).

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: colonización, infección inaparente y enfermedad infecciosa. (Alos *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.

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 y mortalidad representan un importante reto a la hora de establecer su diagnóstico y tratamiento.

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.

La distribución epidemiológica no es uniforme, variando su incidencia en función de la edad y el sexo. En lactantes menores de 3 meses predomina en varones y posteriormente es más frecuente en niñas. En la edad adulta, existe una mayor prevalencia en la mujer coincidiendo con el inicio de las relaciones sexuales. En la vejez la incidencia de ITU aumenta en ambos sexos, aunque de manera más marcada en varones. (Mandell, JE et al. 2005).

Las infecciones del tracto urinario se clasifican en infecciones de vías bajas y altas.

En las infecciones urinarias de vías bajas, se incluyen:

La cistitis, infección superficial de la mucosa vesical, caracterizada por la presencia del síndrome miccional: disuria (escozor), polaquiuria (aumento de la frecuencia, aunque no del volumen total) y tenesmo (micción urgente), a menudo acompañados de dolor suprapúbico, orina maloliente y en ocasiones puede aparecer hematuria.

La uretritis, inflamación de la uretra, generalmente causada por infecciones de transmisión sexual.

La prostatitis, inflamación de la próstata, aguda o crónica.

La epididimitis, inflamación del epidídimo, generalmente secundaria a prostatitis.

En las infecciones urinarias de vías altas, se incluyen los síndromes debidos a inflamación del parénquima renal (pielonefritis aguda o crónica) y los procesos supurativos locales (absceso renal).

Otro parámetro de clasificación de las infecciones del tracto urinario es la complicación o no de la infección, siendo las infecciones urinarias complicadas las que se producen en pacientes con patología metabólica previa o con anomalía estructural o funcional del tracto urinario; el embarazo, la diabetes, el trasplante renal, la edad avanzada, la hospitalización, la hipertrofia prostática y diversas enfermedades metabólicas e inmunológicas también pueden hacer complicada una ITU. También se incluyen aquí las causadas por patógenos resistentes a antibióticos. (Mensa 2008). Sin embargo, la única infección urinaria no complicada es la cistitis en la mujer sana no embarazada.

Por último, la infección del tracto urinario cuando se producen de forma recurrente se puede clasificar en recidivas y reinfecciones. Las recidivas representan el 20% de las recurrencias, la bacteriuria es debida al mismo germen que produjo la primera infección, y suele ocurrir entre una y dos semanas después de finalizar el tratamiento previo. Las reinfecciones, son más frecuentes que las recidivas, están producidas por una bacteria distinta y se producen meses después de la infección inicial. A veces pueden deberse al mismo microorganismo, que persiste en vagina o intestino.

Antibióticos betalactámicos.

Los betalactámicos son un grupo de antibióticos de origen natural o semisintético que se caracterizan por poseer en su estructura un anillo betalactámico. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana. Constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos y la más utilizada en la práctica clínica. Se trata de compuestos de acción

bactericida lenta, relativamente independiente de la concentración plasmática, que presentan escasa toxicidad y poseen un amplio margen terapéutico. Su espectro se ha ido ampliando a lo largo de los años por la incorporación de nuevas moléculas con mayor actividad frente a los bacilos gramnegativos; pero la progresiva aparición de resistencias adquiridas ha limitado su uso empírico y su eficacia en determinadas situaciones (Marin and Gudiol 2003)

Mecanismo De Acción.

Los antibióticos betalactámicos son agentes bactericidas que producen su efecto principalmente a través de 2 mecanismos: inhibición de la síntesis de la pared bacteriana e inducción de la autólisis bacteriana. La pared bacteriana es una estructura que envuelve las bacterias de todos los géneros, excepto los micoplasmas; se sitúa por fuera de la membrana citoplásmica y está compuesta principalmente por una proteína llamada peptidoglucano. Las bacterias gramnegativas tienen una pared más fina y compleja que los gram positivos, que consta de una membrana externa formada por lípidos y proteínas, y de una capa interna delgada de peptidoglucano. El esqueleto del peptidoglucano está constituido por largas cadenas de glúcidos, formadas por la repetición de moléculas de ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. A su vez, el ácido murámico fija cadenas de tetrapéptidos que se unen entre sí y forman una malla. Los diferentes componentes del peptidoglucano se sintetizan en el citoplasma y son transportados a través de la membrana citoplásmica al espacio que hay entre ésta y la pared celular (espacio periplásmico), donde se van ensamblando hasta formar la estructura previamente descrita. La última fase de la síntesis de la pared bacteriana consiste en la formación de los tetrapéptidos a partir de los pentapéptidos (mediante la pérdida de uno de los aminoácidos terminales), para lo que se necesita la acción de unas enzimas que se localizan en ese espacio periplásmico, llamadas de forma genérica transpeptidasas. El anillo betalactámico presenta una

similitud estructural con la región del pentapéptido al que se unen estas enzimas, por lo que es capaz de unirse a ellas de forma covalente e impedir así la formación de la pared celular. Es por eso que estas enzimas se llaman también PBP (*penicillin binding protein* ‘proteína ligada a la penicilina’). Sin la pared, la bacteria queda expuesta al medio y muere debido a cambios en la presión oncótica. Por tanto, para que actúen los betalactámicos, es preciso que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que éste es el momento en que se sintetiza la pared celular. Los betalactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglucano. (Suarez y Gudiol 2009).

Clasificación y estructura química.

Los antibióticos betalactámicos vienen definidos químicamente por la presencia de un anillo betalactámico, anillo heterocíclico de cuatro átomos, tres de carbono y uno de nitrógeno y según la naturaleza de los radicales se diferencian las distintas moléculas, siendo las cadenas laterales complementarias las más relacionadas con su actividad antimicrobiana, farmacocinética y de toxicidad. Se conocen cinco grandes grupos de antibióticos betalactámicos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes, monobactames e inhibidores de las betalactamasas. Fig.Nº 1 (Marin and Gudiol 2003).

Resistencia a los betalactámicos.

La resistencia se produce en todas las clases de microorganismos (bacterias, hongos, parásitos y virus). La resistencia a los antimicrobianos en bacterias actualmente es una importante preocupación tanto para las infecciones adquiridas en la comunidad y en la atención sanitaria (Suarez y Gudiol, 2009).

La resistencia bacteriana es la producida por rasgos del microorganismo codificados genéticamente y es el tipo de resistencia que prueban los métodos de sensibilidad *in vitro*.

La resistencia bacteriana puede dividirse en resistencia intrínseca o inherente y resistencia adquirida.

Resistencia intrínseca.

Es la resistencia a los antimicrobianos del estado genético, estructural o fisiológico normal de un microorganismo, este tipo de resistencia es una característica natural y heredada de forma invariable que se asocia con la inmensa mayoría de las cepas que constituyen un grupo, un género o una especie. Estos son útiles para determinar qué agentes antimicrobianos deben incluirse en la batería de fármacos que se probarán contra tipos específicos de microorganismos.

Los perfiles de resistencia intrínseca son marcadores útiles para ayudar a la identificación de ciertas bacterias o grupos bacterianos (Forbes, 2009).

Resistencia adquirida.

Es la resistencia a los antibióticos como resultado de la alteración fisiológica y la estructura de las células a causa de cambios en la composición genética habitual. A diferencia de la resistencia intrínseca, la adquirida puede ser un rasgo asociado con algunas cepas de un grupo o especie de microorganismos pero no con otras. Todos los mecanismos de resistencia adquirida están codificados genéticamente. (Forbes, 2009).

La resistencia puede adquirirse por:

- Mutaciones genéticas exitosas.
- Mecanismo de transferencia génica.
- Combinación de mutación y de transferencia génica.

Mecanismo De Resistencia.

Las bacterias pueden desarrollar resistencia a los betalactámicos por varios mecanismos, que en ocasiones se asocian (Poole.2001). El control genético de estos mecanismos puede ser cromosómico, plasmídico o por transposones. La resistencia cromosómica aparece por mutación, mientras que los plásmidos y los transposones pueden ser autotransferibles entre bacterias.

- Alteraciones de la permeabilidad

La presencia de membrana externa en los bacilos gramnegativos dificulta la penetración de sustancias hidrofílicas, como los betalactámicos, que necesitan utilizar los poros proteicos (porinas) para tal fin. La resistencia es secundaria a alteraciones en dichas porinas.

- Modificación de las dianas.

Los betalactámicos deben unirse a las PBP para ejercer su efecto bactericida. Cambios a nivel de las PBP implican una pérdida de afinidad de los betalactámicos por ellas, con la consiguiente disminución de su actividad. Este mecanismo afecta fundamentalmente a cocos grampositivos. (Smith 1993; De Lencastre et al 1991)

- Producción de enzimas.

Actualmente constituye el principal mecanismo de resistencia a los betalactámicos, sobre todo en las bacterias gramnegativas. Las betalactamasas son enzimas catalíticas de naturaleza proteica cuya producción está controlada por un gen, bien cromosómico o bien transferido por plásmidos o transposones (Bush 1995).

Actúan rompiendo el enlace amídico del anillo betalactámico, previa unión al grupo carboxilo, con lo que éste pierde la capacidad de unirse a las PBP. El grado de resistencia que determinan se correlaciona con su concentración, afinidad por los diferentes betalactámicos y propiedades hidrolíticas. La producción de betalactamasas puede ser constitutiva (se producen

siempre) o inducible (sólo en presencia de un betalactámico). En este sentido no todos los betalactámicos tienen el mismo poder de inducción, pudiendo ser desde poco a altamente inductores. En los microorganismos gramnegativos, las betalactamasas plasmídicas son constitutivas y su grado de producción está en relación con el número de copias del plásmido, mientras que en los estafilococos suelen ser inducibles. Las betalactamasas cromosómicas, que son producidas fundamentalmente por bacterias gramnegativas, pueden ser constitutivas o inducibles.

- Expresión de bombas de eliminación activa.

Los mecanismos de expulsión consisten en bombas de flujo, dependientes de energía, que bombean al antimicrobiano al exterior. Este mecanismo se ha demostrado en ciertos bacilos gramnegativos, especialmente en *P. aeruginosa*.

Betalactamasas.

Las betalactamasas o penicillin amido-beta-lactamhidrolasas (EC 3.5.2.6) han sido definidas por el Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry como “enzimas que hidrolizan amidas, amiditas y otras uniones C-N” (Feb 1993).

Estas enzimas están ampliamente distribuidas en bacterias tanto grampositivas como gramnegativas, constituyendo el mecanismo más común de resistencia en contra de los antibióticos betalactámico (Ambler 1980)

Las betalactamasas son la mayor defensa de las bacterias gramnegativas 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).

Clasificación de las betalactamasas.

La continua descripción de nuevas betalactamasas ha creado problemas en su clasificación y nomenclatura. Actualmente se conocen más de 890 enzimas. Bush en el año 1989 propuso una clasificación basada en la actividad enzimática o afinidad de las enzimas por diferentes sustratos y su sensibilidad a la acción inhibitoria por el ácido clavulánico. Esta clasificación fue revisada en 1995 por Bush, Jacoby y Medeiros y actualizada en 2010 por Bush y Jacoby. Por otro lado, Ambler en 1980 propuso una clasificación en función de los mecanismos de interacción enzima-sustrato y la secuencia de aminoácidos de las betalactamasas en la que distinguen cuatro clases de enzimas designados como A, B, C y D. Tanto la clasificación de Bush y Jacoby como la de Ambler están correlacionadas.

De entre todas las betalactamasas descritas hasta el momento, caben destacar por su interés e implicaciones clínicas las siguientes:

- Betalactamasas de espectro extendido (grupos 2be, 2ber y 2de de la clasificación de Bush y Jacoby: enzimas tipo TEM, SHV, CTX-M y OXA).
- Betalactamasas resistentes a los inhibidores (grupo 2br: enzimas tipo TEM y SHV).
- Betalactamasas tipo AmpC (grupo 1: enzimas tipo LAT, MIR, CMY y FOX).
- Carbapenemasas (grupos 2f, 2df y 3: enzimas tipo VIM IMP, IMI, KPC, NDM y OXA)

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 and Munoz-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 gramnegativas 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.

Las betalactamasas cromosómicas pueden ser de producción constitutiva (alto o bajo nivel) o inducible. (Livermore, 1995).

- **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 y Munoz- 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 cefamicinas 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).

Son enzimas de configuración plasmídica producidas por bacilos gramnegativos, principalmente enterobacterias, en concreto *Escherichia 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 y Medeiros; cuando éstas sufren mutaciones 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. (Patterson 2003)

Fue en 1983 en Alemania cuando se aisló por primera vez una BLEE, en una cepa de *Klebsiella ozaenae*.

A parte de las TEM y SHV en 1989 se describió otro tipo de BLEE las cefotaximasas o CTX-M, derivan de betalactamasas cromosómicas de especies del género *Kluyvera*, pertenecen a la clase molecular A y son resistentes a cefotaxima, cefuroxima, cefepima y en menor medida a ceftazidima.

Epidemiología de las BLEE.

La posibilidad de diseminación de las BLEE es extraordinaria, debido a que están codificadas en plásmidos conjugativos, lo cual posibilita no solo la diseminación de este mecanismo de resistencia entre distintas cepas de la misma especie sino también entre diferentes especies bacterianas.

En un principio se aislaron en pacientes hospitalizados, pero en la actualidad se están detectando en infecciones adquiridas en la comunidad. (Gobernado 2005)

A partir del año 2000 se ha observado un aumento de aislamientos de cepas de *E. coli* productoras de CTX-M que afectan a pacientes de la comunidad y principalmente están implicadas en ITU. Estas cepas de *E. coli* son también resistentes a quinolonas, aminoglucósidos y cotrimoxazol. (Perez, Endimiani. *et al.* 2007).

Metodología De Detección De BLEEs.

The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ha establecido recomendaciones para el tamizaje y confirmación de BLEE en *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* Básicamente, las pruebas para la detección de BLEE se agrupan en las de tamizaje inicial y las de confirmación.

- Test de tamizaje: Método de disco difusión (Kirby-Bauer)

Para identificar potencial productoras de BLEE se usa los nuevos límites de difusión por disco y CIM para aztreonam, cefotaxima, ceftriaxona y ceftazidima. Una cepa productora de

BLEE podría hidrolizar uno o más de estos agentes. Probar varios de estos agentes incrementará la sensibilidad de detección de la variedad de BLEEs que podría encontrarse. (CLSI 2011).

El CLSI recomienda los grupos de antimicrobianos a elegir según la procedencia de las muestras, en este caso los urocultivos, para el test de disco difusión, así mismo en la edición Nro. 27 plantea los nuevos límites de difusión (ver Fig. Nro. 2 y 3 – Anexo).

- Prueba confirmatoria BLEE – Método de Jarlier (Comité de antibiograma de la sociedad Francesa de Microbiología)

La técnica fenotípica inicial más utilizada en el laboratorio de microbiología clínica para establecer la presencia de las BLEE es la de aproximación de doble disco. La prueba consiste en colocar un disco de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg/ml) en el centro de una placa de Mueller Hinton a una distancia de 30 mm de uno de ceftazidima (30 µg) y cefotaxima (30 µg), el sinergismo observado entre algunas de las cefalosporinas y la amoxicilina/ácido clavulánico expresa la producción de BLEE. Esta prueba ha sido modificada para mejorar su eficiencia con la disminución en la distancia entre los discos de 20 mm y la utilización de cefepima para detectar BLEE en los microorganismos productores de betalactamasas AmpC que podrían ocultar la expresión de BLEE. (CLSI 2011; Jarlier 1988)

- Técnicas confirmatorias de BLEE: Combinación de discos.

Las potenciales productoras de BLEEs son analizadas tanto con cefotaxima y ceftazidima solas y en combinación con ácido clavulánico. Si el aislamiento produce una BLEE, el ácido clavulánico inhibirá la actividad de la enzima y restaurará la actividad de la cefotaxima o la ceftazidima. Se puede usar un método de disco difusión por disco o de CIM. Un incremento \geq a 5 mm en el diámetro del halo para cefotaxima o ceftazidima cuando se prueban en combinación

con ácido clavulánico, comparado con el diámetro del halo cuando se prueba sin el ácido clavulánico, confirma la producción de BLEE. (CLSI 2011)

- Otras técnicas de confirmación de BLEEs:

E-test (prueba Epsilon); Beta-ESBL (AB Biodisk, Solna, Sweden); pruebas automatizadas para la detección de BLEE como el sistema Micro-Scan ESBL plus (Dade Behring, Ca, USA) permite confirmar las BLEE *en Klebsiella sp y Escherichia coli*. También está disponible la tarjeta Vitek ESBL (Biomeriux, Durham, NC, USA; métodos bioquímicos para la identificación de BLEE siendo uno de los procedimientos para confirmar las BLEE el isoelectroenfoque (IEF), el análisis del perfil de antibióticos y la cinética enzimática; métodos moleculares para la identificación de BLEE los cuales se aplican cuando ha sido confirmado el fenotipo de BLEE. Entre ellas está la de PCR. (Villegas *et al.*, 2011).

Otras técnicas moleculares han sido introducidas recientemente como la técnica de PCR-RFLP (*Restriction fragment length polymorphisms*) o análisis del polimorfismo de los fragmentos largos de restricción con diferentes enzimas del producto de PCR, la técnica PCR-SSCP (*Single Strand Conformation Polymorphisms*), la técnica PCR-RSI (*Restriction Site Insertion*) o amplificación con (Lezameta *et al.*, 2010).

Sin embargo, dado el alto número de variantes BLEE ninguna de estas técnicas asegura la identificación final de las BLEE al menos que se realice la secuenciación de los genes que codifican las enzimas, que continúa siendo el método de referencia para la identificación plena de las BLEE (Hawser *et al.*, 2011; Villegas *et al.*, 2011).

2.3. Hipótesis.

Esta investigación es de tipo descriptivo, por lo que no se plantea hipótesis.

2.4. Términos básicos.

Abreviaturas

ARM: resistencia antimicrobiana por sus siglas en ingles *Anti Microbian Resistance*

BLEE: betalactamasa de espectro extendido.

CMI: Concentración mínima inhibitoria.

CLSI: *Clinical and Laboratory Standard Institute* (antes The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)).

BSAC: *British Society for Antimicrobial Chemoterapy*

SFM: *Societe Francaise de Microbiologie*

RAPD: *Randomly amplified polymorphic DNA.*

ERIC-2: *Enterobacterial repeat intergenic consensos.*

PCR: *Polymerase Chain reaction.*

SENTRY: *Antimicrobial Surveillance Program*

IDSA: La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas

PBP: Penicillin Blinding Proteins

EDTA: Acido Etilendiaminotetraacético

pCMB: p-cloromercuribenzoato

CAPITULO III

MÉTODO

3.1. Tipo y diseño de estudio.

Tipo: Estudio retrospectivo, descriptivo de corte transversal, cuantitativo, aplicativo.

Diseño: No experimental en concordancia con Hernández, Fernández, y Baptista

3.2. Población y muestra.

Población: la población está conformada por todos los pacientes ambulatorios y hospitalizados mayores de 18 años que acudieron a una clínica privada a realizar un urocultivo.

Muestra: Las muestras de estudio están constituidas por aislamientos de *Escherichia coli* provenientes de cultivos de orina obtenidas de pacientes ambulatorios e internados en una clínica privada de Lima entre los meses de enero a junio del 2017.

Criterios de inclusión

- Edad igual o mayor de 18 años.
- Muestra de orina apropiadamente colectada y libre de algún tipo de contaminación.

Criterios de exclusión

- Haber recibido antibiótico en las 48 horas previas a su atención ambulatoria.
- Ser portador de catéter urinario y otro artefacto de las vías urinarias.
- Mujeres embarazadas.

3.3 Variables y operacionalización.

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR	TIPO DE RESPUESTA	ESCALA
UROCULTIVO	Examen de laboratorio que a través del crecimiento microbiano controlado permite analizar la presencia de bacterias u otros microorganismos infecciosos en una muestra de orina	Cualitativa	1. Positivo 2. Negativo	Dicotómica	Nominal
E.COLI BLEE	Escherichia coli productora de betalactamasa de espectro extendido	Cualitativa	1. Positivo 2. Negativo	Dicotómica	Nominal
SEXO	Variable biológica y genética que divide a los seres humanos en dos posibilidades.	Cualitativa	1. Masculino 2. Femenino	Dicotómica	Nominal
EDAD	Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento	Cualitativa	1. 18 a 29 2. 30 a 59 3. 59 a más	Discreta	Intervalo
SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	Sensibilidad de cierta colonia bacteriana a un determinado antibiótico.	Cualitativa	1. Resistente 2. Sensible	Dicotómica	Nominal
PROCEDENCIA	Origen o principio de donde viene alguien.	Cualitativa	1. Hospitalizado 2. Ambulatorio	Dicotómica	Nominal

3.4. Instrumento de recolección de datos.

Los instrumentos utilizados para la recolección de datos fueron:

El registro de reportes mensuales de todos los urocultivos procesados en el área de microbiología, de la cual se vaciará sólo los datos de los urocultivos que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

Las fichas A y B (ver anexo) en donde se recolectarán todos los datos necesarios.

Para la obtención de los datos como la edad, sexo, procedencia, resultados de los urocultivos por pacientes y el número total de pacientes que acudieron a la clínica en el periodo de tiempo correspondiente desde el mes de enero hasta el mes de junio del año 2017, se hizo uso del programa Syslabs, guardando confidencialidad y excluyendo datos de identificación personal por lo que no fue necesario el consentimiento informado.

3.5. Procedimientos, materiales y equipos.

Se procedió con la recolección de datos desde el programa Syslabs del área de microbiología, usando la ficha A (ver anexo), donde se incluye los urocultivos analizados en la clínica durante el periodo comprendido entre el mes de enero y el mes de junio del año 2017, rechazando los urocultivos de acuerdo a los criterios de exclusión. Se creó una base de datos en el programa Excel y SPSS obteniendo todos los urocultivos, tanto positivos y negativos, así como también el número total de urocultivos de cada mes, la información de sexo (Masculino o femenino), edad (mayores de 18 años), procedencia (ambulatorio u hospitalizado) y la sensibilidad antibiótica.

Se distribuyó el grupo etario excluyendo a menores de 18 años; por lo tanto, de los cinco grupos de clasificación según el MINSA, obtenemos a tres grupos: Jóvenes (18 – 29 años), Adultos (30 – 59 años) y Adulto mayor (mayores de 60 años).

Obtenido los datos se calculó el porcentaje de urocultivos positivos para la cepa de *Escherichia coli* de cada mes, desde enero – junio del 2017, la tasa de prevalencia de urocultivos *Escherichia coli* BLEE positivos, y la prevalencia de urocultivos *E. coli* BLEE positivos según el grupo etario, sexo y procedencia así como también se evaluó el perfil de sensibilidad antibiótica de las cepas de *E. coli* BLEE positivas, para esto se aisló los datos correspondientes a los aislamientos de *Escherichia coli* BLEE (+) en la ficha B (ver anexo).

Materiales:

Para el aislamiento e identificación de los urocultivos positivos, así como la detección de BLEEs el área de microbiología de la clínica utiliza los siguientes materiales y reactivos:

Materiales

- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm.
- Placas Petri de 10 x 100 mm.
- Hisopos estériles.
- Asa bacteriológica.
- Pinzas de laboratorio.
- Láminas portaobjetos.
- Guantes de látex estériles.
- Placas de agar Mueller-Hinton (Himedia ®) (4mm de espesor) almacenadas de 2 a 8 °C.
- Placas de Agar para aislamiento de enterobacteriáceas almacenadas de 2 a 8 °C MacConkey y Agar Sangre (Himedia ®).
- Estándar 0.5 de McFarland.

- Solución salina estéril al 0.85%.
- Colorante para Gram (Cristal violeta, Lugol, Alcohol acetona, Safranina).
- Aceite de inmersión
- Pruebas Bioquímicas (TSI, LIA, Citrato, MIO) (Valtek S.A)
- Reactivo Indol.

Material Biológico

- Cepa de *Bacillus subtilis*
- Cepas de enterobacteriáceas aisladas de las muestras que llegan al laboratorio de microbiología.
- Control negativo, cepas de *E. coli* ATCC 25922 BLEE (-).
- Control positivo *K. pneumoniae* ATCC 700603 BLEE (+).
- Control de calidad de los discos empleados tanto para el tamizaje como para el método de confirmación fue realizado usando cepas ATCC de *E. coli* 25922, *E. coli* 35218.

Discos de antibióticos: Sensidiscos-E.M. V: Amoxicilina/ácido clavulánico (20 µg/10 µg), Ceftriaxona (30 µg), Ceftazidima (30 µg), Cefotaxima (30 µg), Cefepima (30 µg), Aztreonam (30 µg), Ciprofloxacino (5 µg), Fosfomicina (200 µg) Gentamicina (10 µg), Amikacina (30 µg), Imipenem (10 µg), Sulfametropin (25µg), Nitrofurantoina (300 µg), Ampicilina (20 µg).

Equipo

- Incubadora (37 °C).
- Refrigeradora.
- Mechero de Bunsen.
- Microscopio óptico compuesto.

3.6. Análisis de datos:

Se elaboró una base de datos de informática e ingresaron los datos en el programa Microsoft Office Excel 2010 para obtener resultados que posteriormente fueron interpretados en tablas y gráficos.

3.7. Aspectos éticos:

En este estudio se guardó total confidencialidad, excluyendo datos de identificación personal de los participantes.

CAPITULO IV

RESULTADOS

Para una mejor comprensión de los resultados, se dividirá éstos en acápites: (i) Aislamiento, identificación y prevalencia de *Escherichia coli* BLEE, según género, edad y procedencia. (ii) Perfil de sensibilidad de antibióticos no betalactámicos en aislados de *E. coli* BLEE.

Aislamiento, identificación y prevalencia de e. coli BLEE.

En el presente estudio durante el periodo comprendido entre los meses de enero y junio del 2017 se realizaron un total de 357 urocultivos, siendo positivos 273, de los cuales 220 cultivos resultaron ser *Escherichia coli*; es decir, una prevalencia de 80.6%.

De los 220 urocultivos con aislamiento de *E. coli*, se identificaron 65 cepas productoras de BLEE, utilizando como test de tamizaje el disco difusión de Kirby Bauer, recomendada por el CLSI, y se confirmó con el método de Jarlier, obteniendo una prevalencia del 24% con respecto al total de urocultivos positivos y 29.5% con respecto al total de urocultivos positivos con aislamiento de *E. coli*, tal como se muestra en la tabla y gráfica N° 1.

Tabla N° 1. Prevalencia de Escherichia coli BLEE en urocultivos, Clínica Privada Enero - junio 2017.

UROCULTIVO	AISLAMIENTO	%
E. COLI BLEE (-)	155	57%
E. COLI BLEE (+)	65	24%
OTROS	53	19%
TOTAL	273	100%

Fuente: Estadística de la Sección de Microbiología de una Clínica Privada- Lima.

Gráfico N° 1: Prevalencia de Escherichia coli BLEE en urocultivos, Clínica Privada Enero - junio 2017.

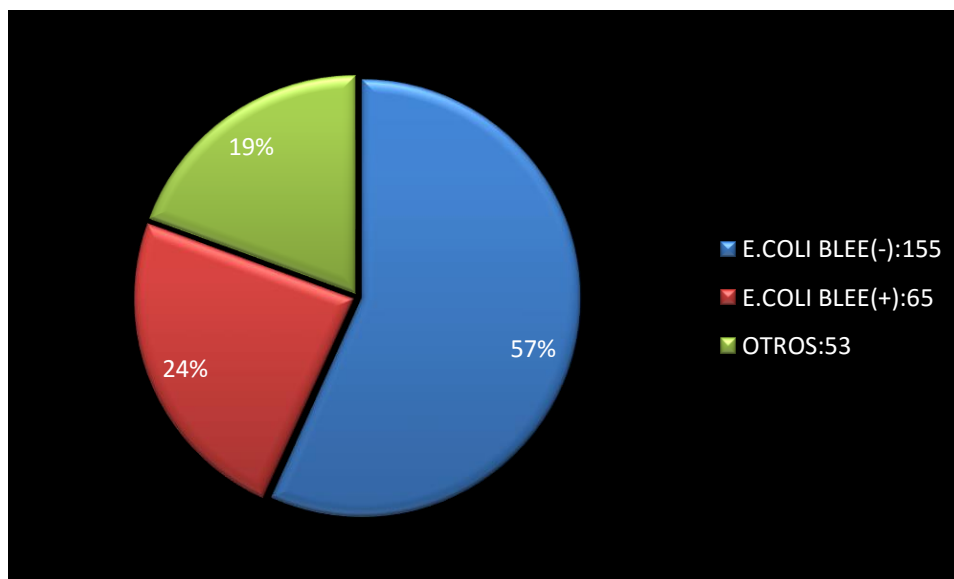
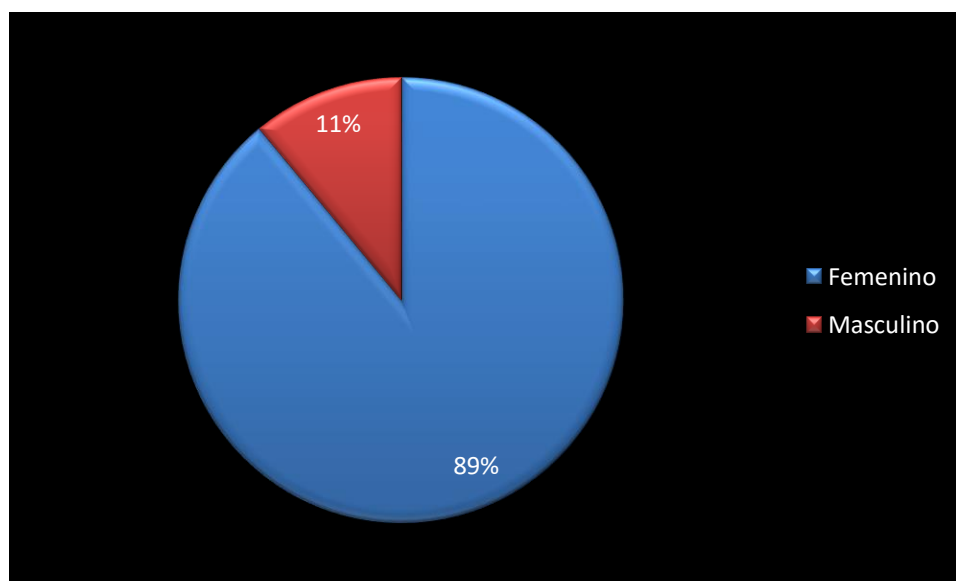


Tabla N^o 2: Prevalencia de Escherichia Coli BLEE (+) en urocultivos según género. Clínica Privada, Enero – junio 2017.

Sexo	Media	N	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	% de N total
Femenino	63,125	58	18,4819732	25	92	89
Masculino	70	7	7,07106781	65	93	11
Total	63,8888889	65	17,5863881	25	93	100

Fuente: Estadística de la Sección de Microbiología de una Clínica Privada-Lima

Gráfico N^o 2: Prevalencia de Escherichia coli BLEE (+) en urocultivos según género. Clínica Privada, Enero – junio 2017.



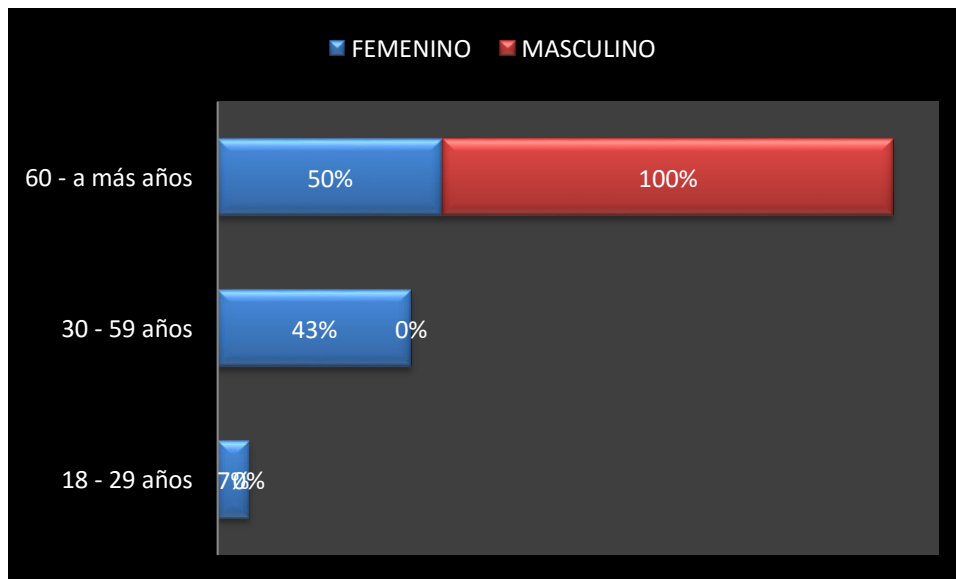
El 89 % de las muestras fueron de sexo femenino y el 11% del sexo masculino. La media de la edad de los pacientes estudiados fue de 64+/-18 años, siendo la mínima de 25 año y la máxima de 93 años. La media de la edad de los varones fue de 70+/-7.0 años. La media de la edad de las mujeres fue de 63+/-18,4 años siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 3: Prevalencia de Escherichia Coli BLEE (+) en urocultivos según género y grupo etáreo. Clínica Privada, Enero – junio 2017.

Grupo etáreo		sexo			
		Femenino		Masculino	
		Nº	%	Nº	%
Grupo etáreo	18 - 29	4	6.9	0	0
	30 - 59	25	43.1	0	0
	60 - a más	29	50	7	100

Fuente: Estadística de la Sección de Microbiología de una Clínica Privada-Lima.

Gráfico N° 3. Prevalencia de Escherichia Coli BLEE (+) en urocultivos según género y grupo etáreo. Clínica Privada, Enero – junio 2017.



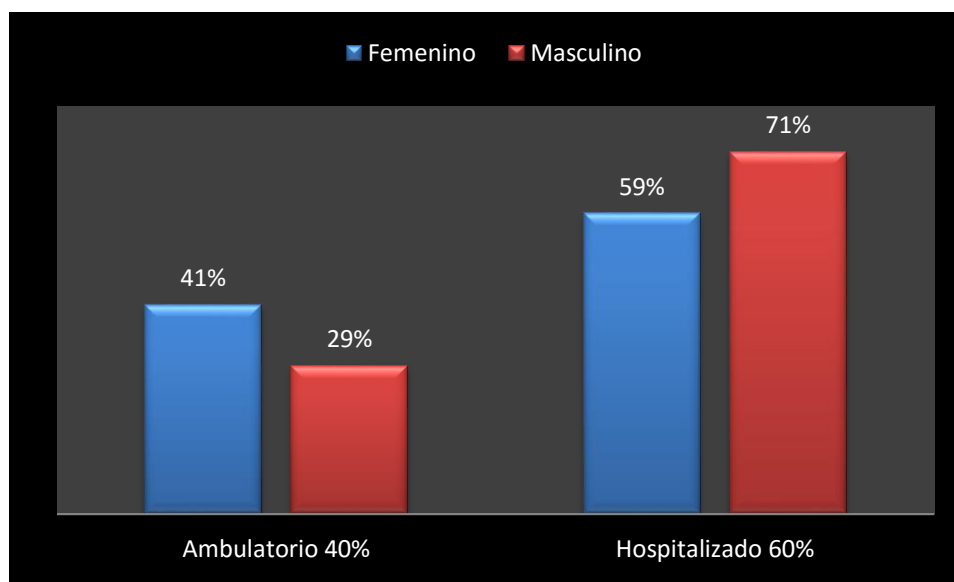
En el sexo femenino, la prevalencia de Escherichia Coli BLEE (+), fue más frecuente en el grupo etáreo conformado por mujeres mayores de 60 años (50%); sin embargo, también se observó una prevalencia alta en el grupo etáreo que abarca desde los 30 hasta los 59 años (25%), y en el sexo masculino fue más frecuente en el grupo etáreo mayor de 60 años (100%).

Tabla N° 4: Prevalencia de Escherichia Coli BLEE (+) según procedencia. Clínica Privada, Enero – junio 2017.

	Ambulatorio		Hospitalizado	
	N°	%	N°	%
Femenino	24	41.4	34	58.6
Masculino	2	28.6	5	71.4
Total	26	40	39	60

Fuente: Estadística de la Sección de Microbiología de una Clínica Privada-Lima.

Gráfico N° 4: Prevalencia de Escherichia coli BLEE (+) según procedencia. Clínica Privada, Enero – junio 2017.



Se aisló cepas de E. coli BLEE (+) con mayor prevalencia en muestras de pacientes hospitalizados (60%), observando una prevalencia de 59% en el género femenino hospitalizadas versus un 41% en pacientes del género femenino ambulatorio; así mismo se observó una prevalencia de 71% en pacientes del género masculino hospitalizado.

Perfil de sensibilidad antimicrobiana de E. coli BLEE (+)

En la gráfica N° 5 podemos observar la multiresistencia que se asocia a la producción de BLEE, sobre todo la resistencia a las fluoroquinolonas, representado por Ciprofloxacino.

En el grupo de los aminoglucósidos se observa que las cepas E. coli productoras de BLEE presenta una marcada resistencia a la Gentamicina; sin embargo, con la Amikacina la sensibilidad fue del 75.4%.

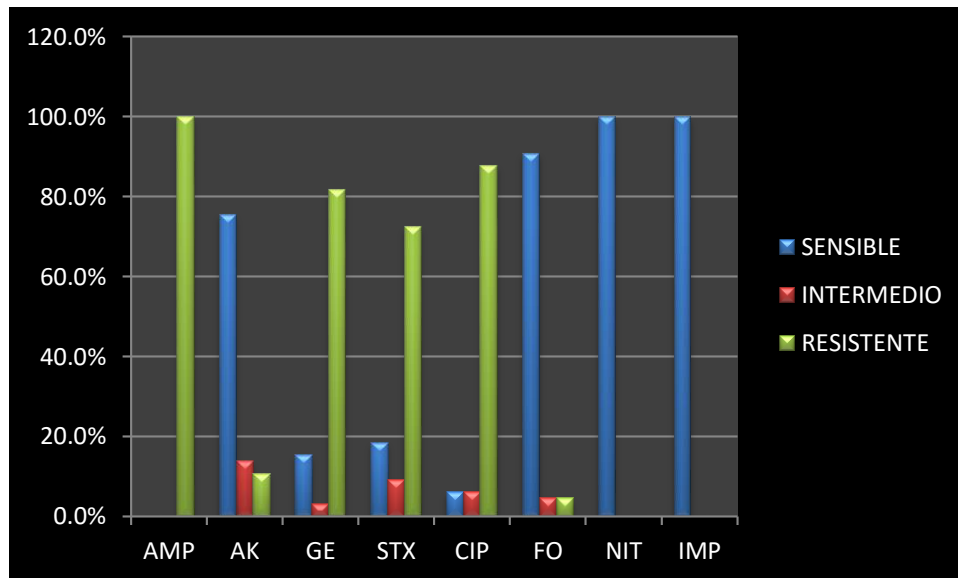
Nitrofurantoína y los carbapenémicos representado por el Imipenem, mostraron buena sensibilidad (100%) así como también se observó una sensibilidad alta a Fosfomicina (90.8%).

Tabla N° 5: Susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de Escherichia Coli BLEE (+) en urocultivos. Clínica Privada 2017.

ANTIBIÓTICOS	ABREVIATURA	N° DE MUESTRAS			PORCENTAJES		
		S	I	R	I	R	
Ampicilina	AMP	0	0	65	0	0	100
Amikacina	AK	49	9	7	75.4	13.8	10.8
Gentamicina	GE	10	2	53	15.4	3.1	81.5
Sulfatrimetropim	STX	12	6	47	18.5	9.2	72.3
Ciprofloxacino	CIP	4	4	57	6.2	6.2	87.6
Fosfomicina	FO	59	3	3	90.8	4.6	4.6
Nitrofurantoína	NIT	65	0	0	100	0	0
Imipenem	IMP	65	0	0	100	0	0
S= SENSIBLE		I= INTERMEDIO			R= RESISTENTE		

Fuente: Estadística de la sección de microbiología de una Clínica privada-Lima.

**Gráfico N° 5: Susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de Escherichia Coli BLEE (+)
en urocultivos. Clínica Privada 2017.**



DISCUSIÓN

La aparición cada vez más frecuente de cepas de *E. coli* productoras de BLEE tanto a nivel hospitalario como ambulatorio, conlleva una gran importancia y responsabilidad a todas las instituciones, públicas y privadas, locales y a nivel nacional, por fomentar y aplicar estrategias que contrarresten esta tendencia.

En este estudio encontramos que de los 273 urocultivos positivos obtenidos durante los 06 meses de recolección de datos, desde enero a junio en el año 2017, el uropatógeno aislado principal fue *E. coli*, hallándose en 220 urocultivos (80.6%), dentro de las cuales se confirmó, mediante el método de Jarlier la presencia de 65 cepas de *E. coli* productora de BLEE; es decir, el 23.8% del total de urocultivos positivos aislados y el 29.5% del total de urocultivos positivos con aislamiento de *E. coli*. La prevalencia de *E. coli* obtenida en nuestro estudio del 80.6 % concuerda con lo reportado por Astete, Flores, Buckley y Villarreal quienes encontraron que la prevalencia de *E. coli* aislados en su estudio fue del 88.4%; así mismo, en el estudio realizado por Vásquez Del Aguila se observa una prevalencia del 91% de *E. coli*, corroborando la alta frecuencia con la que se aísla éste género en las muestras de urocultivos, por ende la importancia clínica que significa su estudio y adecuado tratamiento empírico.

La prevalencia de *E. coli* BLEE positivo encontrada en nuestro estudio (29.5%) es menor comparado con el estudio de Abanto L. quien reporta que de 50 cepas de *E. coli* se recuperaron 22 (44%) cepas productoras de BLEE y una diferencia más marcada con el estudio de Angles *et al.* quien reporta una prevalencia de 83% de *E. coli* productora de BLEE; sin embargo, la prevalencia hallada en nuestro estudio es mayor que lo reportado por Galvan *et al.* en el año 2016 quien encuentra una prevalencia de 16.3% de *E. coli* BLEE con respecto al total de urocultivos positivos con aislamiento de *E. coli*. Mas es importante reseñar, al comparar datos de

prevalencia, que existen importantes diferencias en el diseño de los estudios realizados, el tipo de muestra seleccionados y también la diferencia de años entre los estudios teniendo en cuenta los cambios epidemiológicos, así como también los brotes epidémicos.

El aislamiento en las muestras de urocultivos de E. coli BLEE (+) es más prevalente en el sexo femenino (89.2%) dato bastante similar a lo reportado por Astete, Flores, Buckley y Villarreal en el año 2004 (86.6%); reportando también que el grupo etario de mayor prevalencia de E. coli BLEE (+) estuvo comprendido por mujeres entre los 15 a 44 años, dato que se aproxima a lo encontrado en nuestro estudio teniendo en consideración el criterio de exclusión de datos de pacientes menores de 18 años.

Encontramos que la media de la edad de los pacientes con aislamiento de urocultivos E. coli BLEE positivos fue de 63.9 ± 17.6 ; es decir, que los urocultivos E. coli BLEE (+) son más frecuentes en los pacientes mayores de 60 años, datos que son similares a lo reportado por Galván F. quien manifiesta una media de edad de $65,19 \pm 20,2$. Como se puede apreciar las similitudes halladas hablan de una infección que afecta mayormente a personas de edades avanzadas, esto podría ser debido al deterioro fisiológico de la salud o a la presencia de comorbilidades, ya que como sabemos la mencionada infección es más prevalente en edades extremas de la vida.

En cuanto a la prevalencia de E. coli BLEE (+) según la procedencia del paciente observamos que el aislamiento de estas cepas predomina en muestras provenientes de pacientes hospitalizados (60%), explicable debido a los largos periodos de tratamiento así como también al compromiso inmunológico, sin embargo también queda corroborado el incremento significativo en pacientes extrahospitalarios, es decir, de los provenientes de la comunidad (40%).

En el Perú no se conoce la prevalencia real de la resistencia antimicrobiana mediada por BLEE en enterobacteriáceas por la falta de estudios y la dificultad técnica para su detección según Lezameta *et al.*, 2010. En nuestra investigación se determinó que existe una mayor proporción de *E. coli* productoras de BLEE en el medio intrahospitalario que el extrahospitalario o comunitario con prevalencias de 60% y 40% respectivamente. Cabe mencionar la importancia de estudios poblacionales para confirmar o establecer cifras más específicas. Así mismo observamos un porcentaje elevado de aislamientos de éstas cepas provenientes de la comunidad lo que sugiere no solo un inadecuado uso de antimicrobianos, la falta de programas integrales de vigilancia y control sino también, en nuestro medio, la automedicación y la venta indiscriminada de antibióticos sin prescripción médica en las farmacias podrían tener responsabilidad para el incremento de esta resistencia.

En el análisis del perfil de sensibilidad de *E. coli* BLEE positivos frente a antibióticos no betalactámicos se evidenció una alta sensibilidad principalmente a IPM (100%), NIT (100%), FO (90.8%) y a AMK(75.4%) y una resistencia principalmente a AMP (100%), CIP (87.6%) y GE (81.5%) resultados similares a los obtenidos en el año 2016 por Galvan *et al.* quienes reportaron una resistencia alta a AMP (100%), NOR(92%), CIP (94%), CXM y CTX(96%),SXT(70%), ATM(75%) y TOB (85%); así mismo elevada sensibilidad a NIT e IPM(100%) y AMK(91%), y al estudio de Gonzales; Jaulis; Tapia y Samalvides en el 2009 quienes encontraron sensibilidad antibiótica de las ITU para *E. coli* a AMK (88,9%), NIT (75,3%).

La sensibilidad a las quinolonas, representada en este estudio por Ciprofloxacino presenta una resistencia alta, esto podría deberse al uso indiscriminado de éstos fármacos en los últimos años, porcentaje de resistencia que no brinda confianza de éxito terapéutico. Corriendo el riesgo de

sumarse a la Ampicilina por su baja eficacia antibiótica frente a estas cepas, encontrando en este estudio una resistencia del 100% frente a la AMP.

La nitrofurantoína muestra una alta sensibilidad (100%) en nuestro estudio, probablemente por el poco conocimiento de los pacientes de éste fármaco como tratamiento de I.T.U con una probable baja frecuencia de automedicación.

CONCLUSIONES

1. La prevalencia de *E. coli* BLEE (+) fue de 24% de los urocultivos positivos y de 29.5 % de los urocultivos positivos con aislamiento de *E. coli*.
2. La prevalencia de *Escherichia coli* fue de 80.6 % del total de urocultivos realizados.
3. La prevalencia de *E. coli* BLEE (+) fue mayor en el sexo femenino (89%).
4. En el sexo femenino se encontró mayor frecuencia de urocultivos *E. coli* BLEE (+) en el grupo etáreo comprendido por mayores de 60 años (29%), prevalencia que no difiere significativamente del grupo etáreo comprendido por pacientes de 30 a 59 años (25%); así mismo en el sexo masculino fueron también pacientes mayores de 60 años.
5. En los cultivos *E. coli* BLEE (+), la media de edad fue de 70 años en el sexo masculino y 63.1 años en el sexo femenino.
6. La mayor prevalencia de *E. coli* BLEE (+) se evidenció en las muestras provenientes de pacientes hospitalizados (60%).
7. En el estudio del perfil de sensibilidad de *E. coli* BLEE (+) observamos una mayor sensibilidad antimicrobiana con IPM (100%), NIT (100%), FO (90.8%) y AMK (75.4%) y de mayor resistencia a AMP (100%), CIP (87.6%) Y GE (81.5%).

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar un estudio multicéntrico en hospitales nacionales, fuerzas armadas e instituciones privadas para determinar la prevalencia de E. coli BLEE (+) y el perfil de susceptibilidad antimicrobiana.
2. Ampliar el periodo de estudio para analizar la tendencia que sigue la prevalencia de E. coli BLEE (+) y la susceptibilidad antimicrobiana a través del tiempo.
3. Implementar medidas destinadas a mejorar la información al paciente sobre los riesgos sobre la automedicación y la compra de medicamentos sin indicación médica.

CAPITULO V

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abanto, L. (2010) Producción de betalactamasa clásica y de espectro extendido por *Escherichia coli* aislada de urocultivos provenientes del centro de salud La Noria, La Libertad, 2009. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Abraham, E.P. y Chain, E. (1940) An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin. *Revista Nature*, 146, pp 837.
- Ambler. (1980) The Structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 289: pp 321-331.
- Andreu, A. et al. (2005). Etiology and antimicrobial susceptibility among uropathogens causing community-acquired lower urinary tract infections: a nationwide surveillance study. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 23(1): pp 4-9.
- Angles, E. et al. (2009) Prevalencia de BLEE *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza - 2009. Informe anual de la red de monitoreo/vigilancia de la resistencia a los antibióticos. 33 (08): pp 4 -174
- Astete, S. Flores, F. Buckley, A. y Villarreal, J. (2004) Sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infecciones urinarias en pacientes ambulatorios en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. *Rev. Soc. Per. Med. Inter.* 17. Visto en <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/spmi/v17n1/pdf/a02.pdf> el 22 de agosto del 2017.

- Bradford, P. (2001) Extended spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistant Threat. *Clin Microbiol Rev* 14: p933-51.
- Bush, K. Jacoby, G. y Medeiros, A. (1995) A functional classifications scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 39: pp 1211-33.
- Bush, K. (1989). Classification of β -lactamases: groups 2c, 2d, 2e, 3, and 4. *Antimicrob Agents Chemother* 33(3): pp 271-6.
- Bush, K. (1989). Characterization of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 33(3): pp 259-63.
- Calvo, J. et al (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. Visto en <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia38.pdf> el 14 de setiembre del 2017.
- Chaibi, E. et al. (1999). Inhibitor-resistant TEM β -lactamases: phenotypic, genetic and biochemical characteristics. *J Antimicrob Chemother* 43(4): pp 447-58.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty- First Informational Supplement. CLSI document M100 S21.2011 31(1):48-49.
- De Lencastre, H. et al (1991). Multiple mechanisms of methicillin resistance and improved methods for detection in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 35 pp 632-9.

Echols et al. (1999) Demographic, clinical and treatment paramaters influencing the outcome of acute cistitis. *Clinical infectious diseases*.29; pp 113.

Enríquez, J. y Peralta, X. (2010) Determinación de la presencia de Betalactamasas de Espectro Extendido en Cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes de la fundación "Pablo Jaramillo". Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca.

Fleitas, F. Fretes, C. C. y Guiménez, C. (2008) Catedra de Parasitología y Microbiología Clínica.

Visto en <http://www.slideshare.net/CesarCastorFretesTorales/ctedra-demicrobiologa-y-parasitologa-mdica-2> el 10 de setiembre del 2017.

Forbes, B. (2007) Diagnostico Microbiológico. En: Diagnostico Microbiológico. s.l.:12° Edición.

Galván. Et al. (2016) Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β -Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú. *Rev Med Hered.* 27. pp22-29.

Gaurav, D. (2012) Prevalence of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Producers among Gram Negative Bacilli from Various Clinical Isolates in a Tertiary Care Hospital at Jhalawar, Rajasthan, India. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* vol. 6, n° 2, pp.182-187.

Gobernado, M. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases on the rise. *Rev Esp Quimioter* 18(2): pp 115-7.

Gonzales; Jaulis; Tapia y Samalvides. (2009) *Sensibilidad antibiótica de bacterias causantes de infecciones del tracto urinario en un hospital general: Enero - junio del año 2008.* *Rev Med Hered.* vol.20, n.1, pp25-37.

Gupta, V. (2007). An update on newer beta-lactamases. *Indian J Med Res* 126(5): pp 417-27.

Hawser, S. et al. (2009) Emergence of High Levels of Extended-Spectrum- β Lactamase-Producing GramNegative Bacilli in the Asia Pacific Region: Data from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program, 2007. Taiwan. *Antimicrob. Agents Chemother.* vol. 53, n°8, pp 3280-3284.

Jacoby, G. Y Munoz-Price, L. (2005). The new beta-lactamases. *N Engl J Med* 352(4): pp 380-91.

Jarlier, V. Nicolas, M.H. Fournier, G. y Philippon, A (1988). Extended broad-spectrum beta lactamases conferring transferable resistance to newer beta -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis.*10 (4):867-78.

Kliebe, C. *et al.* (1985) *Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins.* *Antimicrob Agents Chemother.* Rev 28: pp 302–307.

Koneman (1999). *Diagnóstico microbiológico.* 5ta Ed. Estados Unidos: Editorial Médica Panamericana, p.1359.

Koneman, E. y Allen, S. (2008). *Diagnóstico Microbiológico.* Ed. Médica Panamericana.

Levison, M. (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* 4(3): pp 181-183.

Levy y Leopoldo. (2007) Informe técnico: consenso argentino intersociedades para el manejo de la infección del tracto urinario- parte 1. Revista panamericana de infectología.9 (3): pp57-67.

Lezameta; Gonzáles y Tamariz. (2010) Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido-2009. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 27(3): 345-51. Visto en:http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/Medicina_Experimental/v27_n3/pdf/a06v27n3 el 24 de agosto del 2017.

Livermore, D. (1995). beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 8(4): pp 557-84.

Mandell, G. et al. (2005). Principles and Practice of Infectious Diseases 1: pp 881-883.

Marin, M. y Gudiol, F. (2003) Antibióticos betalactámicos. España. Enferm Infecc Microbiol Clin. vol. 21, n° 1, pp. 42-55.

Martin y Gil-setas. (2006) *Etiología y sensibilidad antibiótica de las infecciones extrahospitalarias más frecuentes*. Anales Sis San Navarra. vol.29, n.1, pp.27-36.

Martinez, P.J. et al. (2005). Prevalencia de Klebsiella pneumoniae y Escherichia coli productoras de b-lactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jeronimo de Monteria. Med UNAB. P 8: pp15-22.

Mattar, S. & Martínez, P. (2007) Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las betalactamasas de espectro extendido (BLEE): Detección, impacto clínico y epidemiología. Colombia. Infectio. vol.1, n° 1, pp. 23-35.

Medina, G. et al (2010). Detección de *Escherichia coli* diarreogénicos en niños de barrios humildes de Corrientes, Argentina. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 62(1), 56-65. Recuperado el 14 de setiembre del 2017, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037507602010000100007&lng=es&tlng=es.

Mensa et al (2008). *Guía de Terapéutica Antimicrobiana*.

Merino, L. A. (s.f.). *Estructura bacteriana*, 1–7.

Montenegro; Tafur; Diaz y Fernández. (2016) *Infecciones intrahospitalarias del tracto urinario en servicios críticos de un hospital público de Chiclayo, Perú (2009-2014)*. *Acta méd. Peru*. vol.33, n.3, pp. 189-194

Murray, P. Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2009). *Enterobacteriaceae*, *Microbiología médica* 6a ed., pp. 300 – 315. Madrid: ELSEVIER.

Nordmann, P. y Poirel, L. (2002). Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect* 8(6): pp 321-31.

Pacheco, M. y León, E. (2011). Epidemiología de las infecciones por microorganismos productores de BLEE en el Hospital Vozandes Quito entre los años 2005 – 2009. Ecuador. *Revista Médica Vozandes*. vol. 22, n° 1, pp. 15-21.

Paterson, D. & Bonomo, R. (2005) Extended spectrum s-lactamases: a Clinical update. *Clin Microbiol Rev*. 18: pp 657-686.

- Patterson, J. E. (2003) Extended-spectrum beta-lactamases. *Semin Respir Crit Care Med* 24(1): pp 79-88.
- Poole, K. (2001) Multidrug resistance in gram-negative bacteria. *Curr Opin Microbiol.* 4: pp500-8.
- Puerta y Rodríguez (2010) Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete. España *Medicine.* 10(51). pp3426-31.
- Puerta, A., & Mateos, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 10(51), 3426–31. Visto en [http://doi.org/10.1016/S0304-5412\(10\)70056-1](http://doi.org/10.1016/S0304-5412(10)70056-1). el 22 de setiembre del 2017.
- Quinn, P. J et al (2011). Enterobacteriaceae. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* second, pp. 698 – 766. Iowa: Wiley-Blackwell.
- Rivera; Rodriguez; Huayan y Mercado (2011) *Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en Enterobacteriaceae aisladas de reservorios ambientales de un hospital general en Cajamarca, Perú.* *Rev Med Hered.* vol.22, n.2, pp. 69-75.
- Sánchez, M, y Guzmán, M. (1998) *Manual de Procedimientos en Bacteriología Clínica.* 5° edición. Bogotá, Colombia.
- Smith, A. Klugman, K. Coffey, T.J. y Spratt, B.G. (1993) Genetic diversity of penicillin-binding protein 2B and 2X genes from *Streptococcus pneumoniae* in South Africa. *Antimicrob Agents Chemother* .37: pp 1938-44.
- Stanchi, N. O. (2007). *Microbiología Veterinaria.* Inter-Médica, Primera Ed. Buenos Aires.

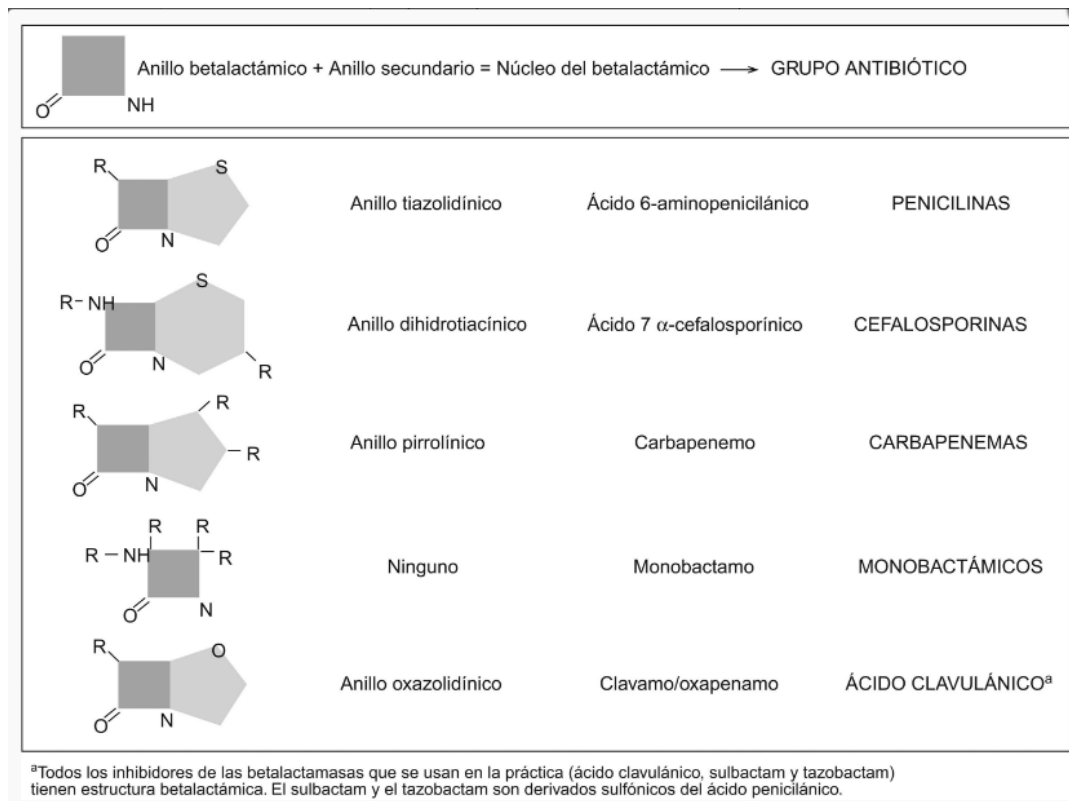
- Suarez, C. y Gudiol, F. (2009) Antibióticos betalactámicos. España. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* vol. 27, n° 2, pp. 116-129.
- Tortora, G. Funke, B. y Case, C. (2007). *Microbiology An Introduction* (11th ed.). Pearson Education, Inc.
- Vasquez del Aguila. (2008) Sensibilidad Antibiótica De Las Bacterias Causantes De Infecciones Del Tracto Urinario En Gestantes. Hospital Regional Docente De Trujillo 2007 - 2008. Visto en <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/57> el 24 de agosto del 2017.
- Varela, C. (2008) Comparación de la resistencia al tratamiento de infecciones urinarias no complicadas a nivel internacional, con historias clínicas del servicio de urgencias del Hospital San Ignacio del año 2007. 2008. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas; Bogotá D. C.
- Vidal, J. Canizález, A. Gutiérrez, J. y Navarro, F. (2007) Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. 49(1).
- Villegas, M. Guzman, B. Sifuentes, O. y Rossi, F. (2011) Increasing prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase among Gram-negative bacilli in Latin America – 2008 update from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). Brazil. *Braz J Infect Dis.* vol. 15, n° 1. pp. 34-39.
- Winokur, P. et al. (2007) Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype of isolates from Europe the Americas and the Western Pacific Region. *Lowa. Clin Infect Dis*, Vol. 32 (Suppl.2), p. 94-105.

Zavala, E. (2006) Correlación entre producción de betalactamasas de espectro extendido en urocultivos y la multirresistencia antibiótica en el H.C.F.A.P. Julio 2005 - diciembre 2006. Tesis para optar el grado de Maestro en Medicina con mención en Medicina Interna USMP.

Zwadik, P. (1983) Enterobacteriaceae: Características Generales. La Habana: Científico Técnica, vol. 2, p. 1413.

ANEXOS

Fig. N° 1: Estructura química de los betalactámicos.



Fuente: Marin, M. y Gudiol, F. (2003) *Antibióticos betalactámicos*. España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Vol. 21, n° 1, pp. 42-55.

Fig. Nro. 2. Grupos sugeridos de agentes antimicrobianos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos para uso clínico que debería considerarse para pruebas e informes de organismos no agresivos por laboratorios de microbiología.

ENTEROBACTERIACEAE			
GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO U
PRUEBA PRIMARIA Y REPORTE	INFORME DE PRUEBA PRIMARIA OPCIONAL SELECTIVAMENTE	INFORME SUPLEMENTARIO SELECTIVAMENTE	SUPLEMENTARIO PARA ORINA SOLAMENTE
<u>Ampicillin</u>	<u>Amikacin</u>	<u>Aztreonam, Ceftazidime</u>	<u>Cefazolin</u>
<u>Cefazolin</u>	<u>Amoxicilin-clavulanate</u>		
<u>Gentamicin, Tobramycin</u>	<u>Ampicillin-sulbactam</u>	<u>Ceftaroline</u>	<u>Fosfomicin</u>
	<u>Ceftolozane-tazobactam</u>	<u>Chloramphenicol</u>	<u>Nitrofurantoin</u>
	<u>Piperacillin-tazobactam</u>	<u>Tetraciclina</u>	<u>Sulfisoxazole</u>
	<u>Cefuroxime</u>		
	<u>Cefepime</u>		
	<u>Cefotetan, Cefoxitin</u>		
	<u>Cefotaxime, Ceftriaxone</u>		
	<u>Ciprofloxacin, Levofloxacin</u>		
	<u>Doripenem, Ertapenem, Imipenem, Meropenem</u>		
	<u>Trimethoprim-zulfamethoxazole</u>		<u>Trimethoprim</u>

Fuente: CLSI M-100 27th. (Tabla 1A)

Fig N° 3: Zone Diameter and Minimal Inhibitory Concentration Breakpoints for Enterobacteriaceae.

Test Report/Group	Antimicrobial Agent	Disk content	Interpretive Categories and zone diameter breakpoints (nearest Wholemm)			
			S	SDD	I	R
Penicillins						
A	Ampicillin	10 ug	≥17	-	14-16	≤13
B-Lactam/B-lactamase Inhibitor Combinations						
B	Amoxicillin-clavulanate	20/10 ug	≥18	-	14-17	≤13
Cephems						
B	Cefepime	30ug	≥25	19-24		≤18
B	Cefotaxime	30ug	≥26	-	23-25	≤22
B	Ceftriaxona	30ug	≥23	-	20-22	≤19
C	Ceftazidime	30ug	≥21	-	18-20	≤17
MONOBACTAMS						
C	Aztreonam	30ug	≥21	-	18-20	≤17
CARBAPENEMS						
B	Imipenem	10ug	≥23	-	20-22	≤19
AMINOGLYCOSIDES						
A	Gentamicina	10ug	≥15	-	13-14	≤12
B	Amikacin	30ug	≥17	-	15-16	≤14
QUINOLONAS AND FLUOROQUINOLONES						
B	Ciprofloxacin	5ug	≥21	-	16-20	≤15
O	Norfloxacin	10ug	≥17	-	13-16	≤12
PHOLATE PATHWAY INHIBITORS						
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 ug	≥16	-	nov-15	≤10
NITROFURANS						
U	Nitrofurantoin	300ug	≥17	-	15-16	≤14

Fuente: CLSI M-100 27th (Tabla 2A-1)

ANEXO A: TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS: Urocultivos procesados desde enero a junio, laboratorio privado Lima-Perú

CODIGO	FECHA	EDAD	SEXO	PROCEDENCIA	RESULTADO	BLEE

Fuente: FUENTE DE ELABORACIÓN PROPIA.

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TEMA	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVO DE ESTUDIO	HIPÓTESIS	VARIABLES DE ESTUDIO	INDICADORES	TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">ESCHERICHIA COLI PRODUCTORA DE BLEE EN UROCULTIVOS - CLINICA PRIVADA LIMA 2017</p>	<p style="text-align: center;">PREGUNTA GENERAL:</p> <p>¿Cuál es la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE en urocultivos analizados en una clínica privada de Lima desde el mes de enero hasta junio del 2017?</p> <p style="text-align: center;">PREGUNTAS ESPECÍFICAS</p> <p>¿Cuál es la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE en los urocultivos analizados en una clínica privada de Lima según el grupo etario?</p> <p>¿Cuál es la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE en los urocultivos analizados en una clínica privada de Lima según el género?</p> <p>¿Cuál es la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE aislados de los urocultivos analizados en una clínica privada de Lima según la procedencia del paciente?</p> <p>¿Cuál es el perfil de sensibilidad de los aislamientos de <i>Escherichia coli</i> BLEE positivos de urocultivos analizados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017?</p>	<p style="text-align: center;">OBJETIVO GENERAL:</p> <p>Determinar la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE en aislamientos de urocultivos realizados en una clínica local de Lima desde el mes de enero hasta junio del 2017.</p> <p style="text-align: center;">OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <p>Determinar la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE en urocultivos analizados en una clínica privada de Lima según es el grupo etario.</p> <p>Determinar la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE en urocultivos analizados en una clínica privada de Lima según el género.</p> <p>Determinar la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE en urocultivos analizados en una clínica privada de Lima según la procedencia de los pacientes.</p> <p>Valorar el perfil de sensibilidad de los aislamientos de <i>Escherichia coli</i> BLEE positivo de urocultivos procesados en una clínica privada de Lima durante el periodo de enero a junio del 2017.</p>	<p style="text-align: center;">Estudio descriptivo que no plantea hipótesis</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Prevalencia 2. Urocultivo 3. E. coli BLEE 4. Edad. 5. Sexo. 6. Procedencia 7. Sensibilidad antibiótica. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Porcentaje de infectados detectados. 2. Positivo/Negativo medios de cultivo. 3. Positivo/Negativo pruebas de tamizaje y confirmatorias. <p>4,5,6 Base de datos software</p> <p>7. Disco-difusión antibiograma</p>	<p style="text-align: center;">NIVELES DE ESTUDIO:</p> <p>Estudio descriptivo de corte transversal, cuantitativo, aplicativo.</p> <p style="text-align: center;">No experimental</p>