

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



*Escherichia coli* PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE  
ESPECTRO EXTENDIDO EN PACIENTES CON INFECCIÓN DEL  
TRACTO URINARIO QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL  
“MANUEL NUÑEZ BUTRÓN” - PUNO.

TESIS

PRESENTADA POR:

ANDREA CELESTE APAZA HUMPIRI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO – PERÚ

2017

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



*Escherichia coli* PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO  
EXTENDIDO EN PACIENTES CON INFECCION DEL TRACTO URINARIO QUE  
ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL "MANUEL NUÑEZ BUTRÓN"- PUNO.


TESIS PRESENTADA POR:

Bach. ANDREA CELESTE APAZA HUMPIRI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

:   
M.Sc. DANTE JONI CHOQUEHUANCA PANCLAS

PRIMER MIEMBRO

:   
M.Sc. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS

SEGUNDO MIEMBRO

:   
Mg. DANTE MAMANI SAIRITUPAC

DIRECTOR DE TESIS

:   
Mg. CIRIA IVONNE TRIGOS RONDON

Área: Ciencias Biomédicas

Línea: Diagnóstico y epidemiología

Tema: Microbiología médica

Fecha de sustentación: 29-12-2017

## DEDICATORIA

*Esta tesis se la dedico a Dios por darme la oportunidad de vivir, quien supo guiarme por el buen camino durante el transcurso de mi vida, quien me dio la fortaleza para seguir adelante a pesar de las adversidades y no desmayar en los problemas que se presentaban, por estar conmigo en cada pasito que he dado en mi vida, por iluminar mi mente y mi corazón, por esas alegrías y darme el regalo de conocer a personas tan maravillosas durante todo este periodo.*

*Con mucho cariño y gratitud a mis padres Inés y Jorge que sin dudarlo se sacrificaron día a día por mi futuro y que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por los buenos valores que me inculcaron, motivarme, apoyarme, corregirme y por el amor que me dan, por las enseñanzas a aprender a luchar y siempre en compañía de una sonrisa. En especial a ti mamá que eres una mujer ejemplar, por la confianza que depositaste en mí, que con tu sabiduría me enseñaste a ser una persona buena, a luchar por mis metas y que siempre estaría contigo a pesar de las adversidades, por tu paciencia y por tu amor. Gracias a ustedes por todo siempre los llevare en mi corazón papá y mamá.*

*A mis Hermanos Maribel, Bladimir y Nadine por su comprensión, apoyo y motivarme a seguir adelante, por los buenos consejos que me dieron, por las alegrías y esos secretos que tuvimos, que siempre estuvieron ahí cuando más los necesitaba los quiero mucho y lo saben.*

*A Todos aquellos familiares que me apoyaron incondicionalmente durante este periodo de mis estudios, en especial mi eterna gratitud a mi tía Andrea y mis primos Angela y Santos, por sus buenos consejos para que pudiera seguir adelante. Y a todas aquellas personas que directa o indirectamente me dieron su apoyo incondicional*

*Andrea Celeste*

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano – Puno y a mi apreciada Facultad de ciencias Biológicas por haberme brindado la oportunidad de formarme íntegramente como profesional y abrirme las puertas de su seno científico para poder estudiar mi carrera profesional, así también a los docentes de la Escuela profesional de Biología en especial a la Dra. Roxana Medina Rojas, Dra. Youri Teresa del Carpio, Dr. Buenaventura Carpio y al Dr. Juan Jose Pauro, que me brindaron todos sus conocimientos, amistad y contribuyeron en mi formación académica de una manera más buena y los que vienen.

Un Agradecimiento especial a mi Directora de tesis Mg. Ciria Ivonne Trigos Rondon y a mi asesor el Dr. Francisco Lajo Soto por sus enseñanzas, por los buenos consejos profesionales, su amistad, apoyo intelectual y moral de este trabajo de investigación, así también haberme tenido toda la paciencia para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

Al presidente del jurado calificador de esta tesis M.Sc. Dante Jony Choquehuanca Panclas y a los dos miembros del jurado M.Sc. Vicky Cristina Gonzales Alcos y al Mg. Dante Mamani Sairitupac por la disponibilidad y valiosas sugerencias durante las revisiones, correcciones y dictamen del borrador de tesis.

Mis más sinceros agradecimientos, al Blgo. Felix Condori Coapaza y con mucho cariño a la Blga. Nira Huanca Yapo al brindarme las facilidades y apoyo de poder ejecutar el proyecto de tesis y apoyarme en la identificación de dicha investigación. Y un eterno agradecimiento a todos los que laboran en el laboratorio Clínico en especial a los Blgs. Ruth, Maria, Sandy, Julio. Saul, Mario entre otros, gracias por las amistad y guiarme en este proyecto.

Agradezco también a tod@s mis amigas en especial a: Roxana, Angela por brindarme ideas y consejos para que culmine esta investigación solo ustedes saben lo que vivimos juntas, Betza, Mariel, Enma, Vane, Yoja, Juanis, etc. Con ustedes llore, reí, hicimos travesuras, etc. A todas Muchas gracias por la amistad que me brindaron solo las carpetas y las paredes serán testigos mudos de nuestra historia, donde nos forjamos jóvenes de hoy y biólogos del futuro.

Hay tanto que agradecer, a esas personas que me apoyaron moral y académicamente de una manera incondicional que me brindaron un poco de su tiempo para aconsejarme y orientarme en especial al sr. Jacinto, Ordoñez, Teves, Meliton, gracias por todo siempre los recordare.

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN .....	10
ABSTRACT.....	11
I. INTRODUCCION.....	12
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
2.1 ANTECEDENTES.....	15
2.2 MARCO TEÓRICO.....	19
2.2.1 Enterobacterias .....	19
2.2.2 Antibióticos betalactámicos.....	27
2.2.3 Betalactamasas .....	36
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	40
3.1.Ámbito de estudio .....	40
3.2. Unidad de análisis .....	40
3.3. Tipo de estudio.....	40
3.4. Población y muestra .....	40
3.5. Metodología .....	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	50
4.1. <i>Escherichia coli</i> como causa de infecciones del tracto urinario (ITU) en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno. ....	50
4.2. Determinación de la producción de betalactamasas de espectro extendido de <i>Escherichia coli</i> en pacientes con infección del tracto urinario según grupo etario que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” - Puno.....	52
4.3. Sensibilidad de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasa de espectro extendido a otros antimicrobianos: fosfomicina, ciprofloxacino, amikacina, imipenem, gentamicina. ....	55
V. CONCLUSIONES .....	59
VI. RECOMENDACIONES .....	60
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	61
ANEXOS .....	68

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figuras 1.</b> Estructura antigénica de <i>Escherichia coli</i> (Murray, 2006).....	19
<b>Figuras 2.</b> Vías de acceso de la infección urinaria (Rodríguez, 2010). .....	24
<b>Figuras 3.</b> Cefalosporinas representativas de cada grupo (Sorlozano, 2004). .....	29
<b>Figuras 4.</b> Inhibidores de betalactamasas (Sorlozano, 2004). .....	31
<b>Figuras 5.</b> Alteración de la permeabilidad.....	34
<b>Figuras 6.</b> Alteración del sitio blanco .....	34
<b>Figura 7.</b> Mecanismo enzimático.....	35
<b>Figura 8.</b> Bombas de flujo .....	35
<b>Figura 9.</b> Mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos. ....	35
<b>Figura 10.</b> Prevalencia de infecciones del tracto urinario (ITU) según sexo causada por <i>Escherichia coli</i> , en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017. ....	51
<b>Figura 11.</b> Producción de betalactamasas de espectro extendido de <i>Escherichia coli</i> con el en pacientes con infección del tracto urinario según la edad que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017. ....	54
<b>Figuras 12.</b> Sensibilidad de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasa de espectro extendido frente a antibióticos .....	56
<b>Figuras 13.</b> Flujograma de aislamiento, identificación, detección y confirmación de <i>Escherichia coli</i> productores de betalactamasa de espectro extendido (BLEE).....	73
<b>Figura 14.</b> Materiales para la preparación de medios de cultivo. ....	74
<b>Figura 15.</b> Medios de cultivos listos para poner al autoclave como: Mac conkey, muller Hinton, Cleed, Agar sangre, Manitol Salado. ....	74
<b>Figura 16.</b> Medios de cultivo listos para la inoculación y sembrado de muestras de orina; para luego guardarlo en el refrigerador a 8°C para que no haya una contaminación de dichos medios. ....	74
<b>Figura 17.</b> Muestras de orina en frascos estériles y crecimiento de enterobacterias uropatogenas en agar MacConkey y agar sangre.....	75
<b>Figura 18.</b> Crecimiento en los medios diferenciales para aislar <i>Escherichia coli</i> uropatogena.....	75
<b>Figura 19.</b> Discos antimicrobianos usados para realizar la confirmación de BLEE y la suceptibilidad de otros antibióticos.....	75

<b>Figura 20.</b> Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana y pruebas de confirmación para BLEE. ....	75
<b>Figura 21.</b> Incubando todos los medios de cultivo Mc conkey, Agar sangre, Cleed y medios diferenciales en la estufa a 37°C por 24 horas para su crecimiento. ....	76
<b>Figura 22.</b> Resultados de los antibiogramas Betalactamasa de espectro extendido (BLEE) positivo. ....	76

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de betalactamasas según Bush, Jacoby, Medeiros y Ambler (Bush, 2010).....	38
<b>Tabla 2.</b> Prevalencia general de infecciones del tracto urinario (ITU) causada por <i>Escherichia coli</i> , en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017.....	50
<b>Tabla 3.</b> Prevalencia de infecciones del tracto urinario (ITU) según sexo causada por <i>Escherichia coli</i> , en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017.....	51
<b>Tabla 4.</b> Producción de betalactamasas de espectro extendido de <i>Escherichia coli</i> en pacientes con infección del tracto urinario que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017 .....	52
<b>Tabla 5.</b> Producción de betalactamasas de espectro extendido de <i>Escherichia coli</i> en pacientes con infección del tracto urinario según grupo etario que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017 .....	54
<b>Tabla 6.</b> Sensibilidad de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasa de espectro extendido frente a antibióticos .....	56
<b>Tabla 7.</b> Puntos de corte estándares (clsi) para tamizaje de cepas BLEE.....	69
<b>Tabla 8.</b> Tabla comparativa de medición de halos de inhibición de antibióticos y diámetros críticos para enterobacterias.....	70
<b>Tabla 9.</b> Reacciones bioquímicas de enterobacterias.....	71



## INDICE DE ACRÓNIMOS

**CMI** = concentración mínima inhibitoria.

**°C** = grados centígrados.

**n** = tamaño de muestra.

**µg** = microgramos.

**%** =porcentaje.

**mm** = milímetros.

**et al.** = y colaboradores.

**spp** = especies.

**g** = gramos.

**ml** =mililitro.

**Blee** = betalactamasas de espectro extendido.

**CLSI** = Clinical Laboratory and Standards Institute

**CO<sub>2</sub>**= Dioxido de carbono

**h** =horas

**ITU**= Infección del tracto urinario

**LIA**= Lysine Iron Agar

**MINSA**=Ministerio de Salud

**SIM**=Sulfuro-Indol-Motilidad

**TSI**=Triple Sugar Iron Agar

## RESUMEN

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que fenotípicamente se caracterizan por conferir resistencia a penicilinas y cefalosporinas, dichos antibióticos se utilizan en el tratamiento de la mayoría de enfermedades infecciosas, por ende este tipo de mecanismo de resistencia hace que el paciente reduzca su nivel de recuperación. La investigación se realizó en el laboratorio del Departamento de Patología Clínica del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” - Puno. Durante los meses de diciembre 2016 a febrero del 2017. Los objetivos fueron: 1). Determinar a *Escherichia coli* como causa de infecciones del tracto urinario (ITU) en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”. 2). Determinar la producción de betalactamasas de espectro extendido de *Escherichia coli* en pacientes con infección del tracto urinario según grupo etario. 3). Determinar la sensibilidad de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido a otros antimicrobianos: fosfomicina, ciprofloxacino, amikacina, imipenem, gentamicina. La metodología utilizada para la identificación de *Escherichia coli* fue la técnica de asa calibrada, la confirmación fenotípica de producción de BLEE fue a través de la prueba de difusión de disco combinado y además en la susceptibilidad antimicrobiana se utilizó el método de Kirby Bauer. La investigación tuvo una muestra probabilística de 44 pacientes; el análisis estadístico que se utilizó fue la prueba no paramétrica de Ji cuadrado con una confiabilidad de 95%. Los resultados fueron: La prevalencia general de infecciones urinarias causadas por *Escherichia coli* es de 70.45%, en el sexo masculino un 16.13% y en el femenino un 83.87%; la producción de BLEE de *Escherichia coli* es de 32.26% (10 muestras), en la edad de niños y adolescentes resultó un 10% y adultos/ adultos mayores fue del 90 %, existiendo variabilidad en la edad ( $p=0.001$ ); la sensibilidad antimicrobiana para Fosfomicina fue del 60%, Ciprofloxacino un 70%, Amikacina el 80%, Imipenem el 100% y Gentamicina el 80%; el promedio de la sensibilidad de los antibióticos es de 78%, existiendo diferencia estadística significativa ( $p = 0.024$ ), señalando a Imipenem como el antibiótico más efectivo.

**Palabras clave:** Betalactamasas, sensibilidad, urocultivo, infecciones.

## ABSTRACT

The Extended spectrum betalactamases (ESBLs) are enzymes that phenotypically are characterized by conferring resistance to penicillins and cephalosporins, these antibiotics are used in the treatment of most infectious diseases, therefore this type of resistance mechanism causes the patient to reduce their level of recovery. The investigation was carried out in the laboratory of the Department of Clinical Pathology of the Regional Hospital "Manuel Núñez Butrón" - Puno. During the months of December 2016 to February 2017. The objectives were: 1). To determine *Escherichia coli* as a cause of urinary tract infections (UTI) in patients attending the Regional Hospital "Manuel Núñez Butrón". 2). To determine the production of extended spectrum betalactamases of *Escherichia coli* in patients with urinary tract infection according to age group. 3). To determine the sensitivity of *Escherichia coli* producing extended spectrum betalactamases to other antimicrobials: fosfomicin, ciprofloxacin, amikacin, imipenem, gentamicin. The methodology used for the identification of *Escherichia coli* was the calibrated loop technique, the phenotypic confirmation of ESBL production was through the combined disk diffusion test and in addition to the antimicrobial susceptibility the Kirby Bauer method was used. The investigation had a probabilistic sample of 44 patients; The statistical analysis that was used was the non-parametric Chi-square test with 95% reliability. The results were: The general prevalence of urinary infections caused by *Escherichia coli* is 70.45%, in the male sex 16.13% and in the female 83.87%; the ESBL production of *Escherichia coli* is 32.26% (10 samples), in the age of children and adolescents it was 10% and adults / older adults was 90%, there being variability in age ( $p = 0.001$ ); the antimicrobial sensitivity for Fosfomicin was 60%, Ciprofloxacin 70%, Amikacin 80%, Imipenem 100% and Gentamicin 80%; the average sensitivity of the antibiotics is 78%, with a significant statistical difference ( $p = 0.024$ ), indicating Imipenem as the most effective antibiotic.

**Key words:** Betalactamases, sensitivity, urine culture, infections.

## I. INTRODUCCION

El uso indiscriminado de antibióticos a provocado que las bacterias obtengan diversos mecanismos de defensa y así formar una resistencia antimicrobiana, una de ellas son las betalactamasas. La resistencia a los antibióticos betalactámicos se atribuye fundamentalmente a la producción de enzimas betalactamasas, dentro de este grupo, las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) que constituyen un alarmante problema, ya que presentan un amplio espectro de inactivación frente a la mayoría de los antibióticos disponibles. Así pues, con el transcurso del tiempo aumentan las tasas de resistencia antimicrobiana y los antibióticos pierden su eficacia dificultando el tratamiento de las enfermedades infecciosas y deteriorando la calidad de vida del paciente.

*Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), evidencia una alta sensibilidad *in vitro* a algunos antimicrobianos, usados típicamente en el tratamiento de las infecciones urinarias, pero *in vivo* resultan ser resistentes, por lo tanto, se tiene un tratamiento poco eficaz que no genera el efecto deseado en el paciente, por lo que se pensaría en una multiresistencia. El Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”- Puno no es ajeno a esta realidad, ya que según estadísticas: *Escherichia coli* es responsable del 50% de las infecciones de vías urinarias de origen comunitario (Mandell *et al.*, 2009).

Tradicionalmente, el tratamiento de este tipo de infecciones se hace de forma empírica, es decir, sin tener identificado el microorganismo causal y dado que *Escherichia coli* es el microorganismo más frecuente causantes de infecciones urinarias, la gran mayoría de médicos no consideran necesario solicitar un urocultivo, ya que hacen uso de una terapia empírica, sin conocer la sensibilidad del uropatogeno y así contribuyendo al problema de la aparición de resistencia bacteriana. Según la Organización Mundial de la Salud considera que, “el uso indiscriminado de los antimicrobianos es una de las principales causas del incremento de la resistencia bacteriana”. Así como el Instituto Nacional de Salud (INS, 2002), menciona que otra de las causas es la automedicación, el uso inadecuado en países como el nuestro país donde los antibióticos se venden sin prescripción médica y sin ninguna vigilancia alguna todos estos factores contribuye a que la bacteria se haga resistente.

Las bacterias productoras de BLEE no solo son resistentes a penicilinas y cefalosporinas, sino que también pueden desarrollar resistencia cruzada a otros grupos antibióticos como: aminoglucósidos, fluoroquinolonas y sulfas, lo cual aumenta el riesgo de fracaso terapéutico, dentro de los factores predisponentes en la aparición de este tipo de cepas BLEE, se encuentran encabezando: el uso indiscriminado de las cefalosporinas de tercera generación, la automedicación, prescripción médica sin previo antibiograma, manos del personal sanitario, todo esto conlleva a una resistencia por betalactamasas.

Por ello las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son un problema de salud pública con proporciones alarmantes de prevalencia en Latinoamérica que alcanza tasas preocupantes en Colombia, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile y Brasil. En el Perú no se cuenta con suficiente información de la real prevalencia de la resistencia antimicrobiana mediada por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en enterobacterias, debido a la falta de estudios.

El presente estudio es de interés tanto para los pacientes que asisten al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”- Puno como para los médicos tratantes de dichos pacientes y para fines epidemiológicos en general; ya que actualmente en los laboratorios del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”- Puno, no se realiza este tipo de pruebas microbiológicas por lo que es necesario realizar un monitoreo, para evidenciar la producción de BLEE en cepas de *Escherichia coli* que circulan en la comunidad y así imponer un plan de acción para el control de las infecciones que pudieran producirse, así mismo evitar la aparición de brotes de infecciones nosocomiales con alta morbilidad y mortalidad, ya que el control de las resistencias limita los brotes epidémicos.

Los objetivos de la investigación fueron:

#### **Objetivo general**

- Determinar la prevalencia *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en pacientes con infección del tracto urinario que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno.

**Objetivos específicos**

- Determinar a *Escherichia coli* como causa de infecciones del tracto urinario (ITU) en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno.
- Determinar la producción de betalactamasas de espectro extendido de *Escherichia coli* en pacientes con infección del tracto urinario según grupo etario que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” - Puno.
- Determinar la sensibilidad de *Escherichia coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido a otros antimicrobianos: fosfomicina, ciprofloxacino, amikacina, imipenem, gentamicina.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 ANTECEDENTES

Garau *et al.*, (2001), en su estudio en España investigaron la resistencia de *Escherichia coli* a la amoxicilina y el sulfametoxazol-trimetoprim donde reporto un 40-60% y 25-35%, ya que estos fármacos han dejado de usarse empíricamente así también se obtuvo proporciones elevadas de resistencia antimicrobiana frente a cefuroxima y amoxicilina/clavulanico superior a 23%. Por otra lado a ciprofloxacino fue sensiblemente bajo en un 16%, así también; Álvaro (2002), en su estudio de perfil microbiológico y resistencia bacteriana de infecciones del tracto urinario en pacientes ambulatorios cuyo resultados fue, que el 84% provenían del sexo femenino, donde *Escherichia coli* fue la bacteria más aislada 68%, seguido de *Proteus sp* 10%, *Klebsiella sp* 6%, *Pseudomona sp* 6%, *Staphylococcus sp* 5% *Enterobacter sp* 5%.

Astete *et al.* (2004), en su investigación en Lima estudiaron la sensibilidad de los antibióticos de los gérmenes que ocasiona las infecciones urinarias en pacientes ambulatorios, los resultados fueron; 327 urocultivos positivos a *Escherichia coli*; sensibilidad para imipenem y meropenem al 100% y resistente para aztreonam un 18.1%, cefepime 14.8%, ceftriaxona 25.2%, ceftazidima 25.3%, cefuroxima 38.4%, cefalotina 64.7%, amikacina 7.8%, gentamicina 61.4%, ciprofloxacino con 69.8%, ampicilina 93.1% y nitrofurantoína 70.8%, además; Sánchez *et al.*, (2004), estudiaron la “Sensibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* en bacteriurias en Colombia”, donde se realizó la sensibilidad antimicrobiana de infecciones urinarias de origen hospitalario, consultas externas, obteniéndose el siguiente resultado, sensibles a imipenem 100%, amikacina 100%, fosfomicina 98,6%.

Martínez *et al.* (2005) en su investigación Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido en Colombia, los 14/60 que se aislaron producían BLEE (23.3%), 11/30 de *Klebsiella pneumoniae* (36.6%) y 3/30 de *Escherichia coli* (10 %). El perfil fenotípico mostro 100% de resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, y reportaron 100% de sensibilidad a imipenem y meropenem, así mismo; Morales, *et al.* (2005), en su investigación Presencia de betalactamasas de espectro extendido en dos hospitales de Lima”, de las 137 cepas de *Escherichia coli* mostró elevada resistencia a las

cefalosporinas de tercera generación; 2,9% del total de *Escherichia coli* fueron confirmadas como productoras de BLEE. Todas las cepas productoras de BLEE fueron multirresistentes y la mayoría presentó co-resistencia, amikacina, gentamicina y ciprofloxacina.

Navarro *et al.* (2005), en su estudio Detección de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en el hospital infantil del estado de sonora, la prevalencia de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE fue de 5%. Hubo resistencia frente a antibióticos no betalactámicos, especialmente a sulfametoxazol/trimetoprim y amikacina, por otro lado; Gonzáles *et al.* (2008), efectuaron un estudio de infecciones del tracto urinario en el Hospital General “Cayetano Heredia” – Lima, donde se analizaron 1249 urocultivos positivos, habiéndose aislado en pacientes no hospitalizados; y el germen frecuente fue *Escherichia coli* 76% seguido de *Klebsiella* sp. 5% y *Citrobacter* sp. (3%). En tanto que *Escherichia coli* fue sensible a amikacina 93.4%, ceftriaxona 78% y ciprofloxacino 44.5%.

Marcos *et al.* (2008), al estudiar la Epidemiología molecular de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido aisladas de infecciones urinarias en Lima, donde se aislaron *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido en un 17.6% de los pacientes, Mostraron resistencia a penicilinas, Por otro lado; Peroso & Castellano (2009), al realizar la Detección de betalactamasas de espectro extendido en cepas de la familia *Enterobacteriaceae* en 3883 cepas estudiadas, en Venezuela, confirmaron la producción de BLEEs en 951 (24.49%) cepas, la producción de BLEEs en *Klebsiella oxytoca* fue de 43,33%, *Klebsiella pneumoniae* (40,10%), *Escherichia coli* (18.34%), *Proteus mirabilis* (6.86%) y *Proteus vulgaris*.

Chambi (2009), al estudiar la resistencia de uropatógenos gramnegativos productores de betalactamasa de espectro extendido en pacientes que acuden al hospital EsSalud de Juliaca, Perú, determinó 199 uropatógenos entre *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., y *Proteus* spp., de los cuales el 30,2% (60/199) de estos microorganismos 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 *Escherichia coli* fue para ampicilina un 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% y 100% de sensibilidad para imipenem.

Enríquez & Peralta (2010), en su investigación Determinación de la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina en Ecuador. Los resultados mostraron que 91 muestras (56%) de *Escherichia coli* 7 muestras (8%) fueron productoras de BLEE. De estas, 2 (29%) fueron aisladas de niños, 2 (29%) de jóvenes, 1 (14%) de un lactante, 1 (14%) de un adulto y 1 (14%) de un adulto mayor. fueron sensibles para Cefotaxime (95%), Ceftazidime (94%), Gentamicina (91%), Norfloxacino (84%), Ciprofloxacino (83%) Amoxicilina/Ác.Clavulánico (72%), Ampicilina (46%).

Padilla (2011), en su trabajo de investigación “Detección de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* mediante el método de jarlier”, de 314 cepas estudiadas en Sucre, 45 corresponden a *Escherichia coli* y 26 a *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido. Sin embargo en la edad, personas de 61 años a más, fueron las más prevalentes de infección por estas cepas. Presentaron sensibilidad a imipenem, y en menor porcentaje a amikacina. La sensibilidad y resistencia a otros antibióticos fue a amikacina de 75.6 %, ciprofloxacina 0 %, y gentamicina fue de 15.6 %.

Churata (2012), al estudiar los Factores clínicos epidemiológicos asociados a infecciones por Enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en Tacna 2012,”. Los resultados mostraron que los principales microorganismos que causa infecciones urinarias son: *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*; que son causantes del 100% de la enterobacterias son BLEE y el 72% son no BLEE. Donde 8 pacientes con infección por enterobacterias BLEE son: sexo masculino (53.8%), edad entre 61 y 80 años (48.7%), sin hábitos nocivos (89.7%), procedentes del servicio de medicina (51.3%), con comorbilidad (71.8%).

Keller *et al.* (2013), en su trabajo de investigación Prevalencia de Betalactamasa de espectro extendido (BLEE) en Enterobacterias provenientes de urocultivos de paciente ambulatorios. Demuestran que del total de urocultivos, 2.409 (21,8%) fueron positivos según los criterios para el diagnóstico de infección del tracto urinario, siendo 1.935 (80,3%) correspondientes a Enterobacterias. Se obtuvo la presencia de BLEE en 114 cepas (5,9 %). Por género y especie fue: *Klebsiella*

*pneumoniae* 28 (22,8%) de 127, *Klebsiella oxytoca* 4 (21,1%) de 19, *Escherichia coli* 76 (4,7%) de 1.610, *Proteus mirabilis* 4 de 108 (3,7%), *Enterobacter* spp: 1 de 17 (5,9 %).

León (2014), al estudiar la multirresistencia antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) aislados en urocultivos del Hospital Regional “MNB”. *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido (BLEEs), los antimicrobianos betalactámicos mostraron elevada resistencia frente a los no betalactámicos con una significancia de ( $p>0,05$ ). Se demuestra que superan más del 50% de resistencia a 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 resulto con más resistencia a trimetoprin- sxt con un 88,46%, en cambio a la fosfomicina, nitrofurantoina y los aminoglucósidos presentaron bajo nivel de resistencia.

López (2014), llevó a cabo un estudio titulado patrón de resistencia bacteriana de los agentes etiológicos causantes de infecciones de vías urinarias altas en pacientes del servicio de medicina interna en Nicaragua, la muestra estuvo conformada por 305 muestras de orina, donde prevaleció el sexo femenino entre las edades de 25 a 37 años, donde el germen aislado fue *Escherichia coli* en un 73.4%, *Proteus mirabilis* con 11.4%, *Klebsiella* sp. un 10.4%, seguido de *Pseudomona aeruginosa* 2.2%, *Streptococcus* sp. 1.6%; donde *Escherichia coli* mostró resistencia a ciprofloxacino 33.9 %.

Díaz *et al.* (2015), en el estudio Prevalencia de *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y otras resistencias en urocultivos en el Hospital Regional de Ica”, los resultados demuestran que la prevalencia de *Escherichia coli* BLEE es de 4%, hallando asociación significativa con sexo y servicio hospitalario. Se obtuvo que la población positiva a BLEE se encontraba mayormente en mujeres (78%) así como el servicio hospitalario con mayor positividad fue medicina interna con un 54%, el grupo etario donde la infección fue más frecuente estuvo comprendida entre 30 y 59 años, sin embargo no mostró significancia estadística. Se halló resistencia a cefalosporinas como la ceftriaxona (60%), mientras que en otras resistencias fue para gentamicina (88%) seguido por sulfatrimetropin (74%).

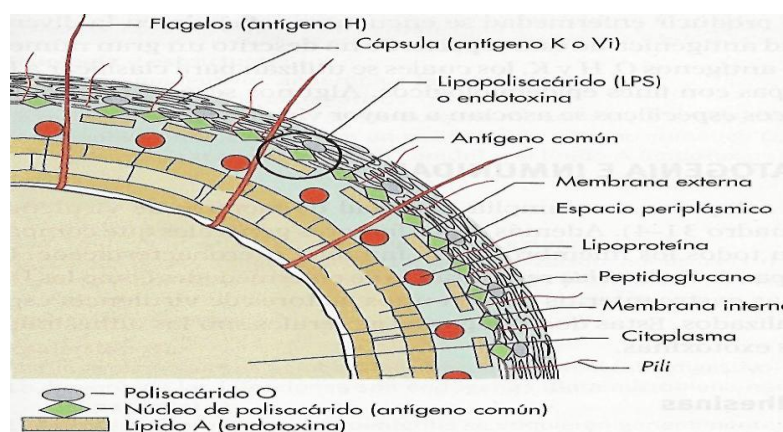
## 2.2 MARCO TEÓRICO

### 2.2.1 Enterobacterias

La familia Enterobacteriaceae, la conforman bacilos gramnegativos de aproximadamente de 1-3  $\mu\text{m}$ . de longitud y 0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, cada una de ellas con diferente morfología, aerobios, anaerobios facultativos y metabólicamente activos, crecen en medios simples y no forman esporas; una gran mayoría son móviles, algunas son capsuladas tal es el caso de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. Todas las especies son catalasa positiva, oxidasa negativa, reducen nitratos a nitritos y fermentan glucosa son de vida libre, se les puede encontrar en aguas contaminadas, el suelo, el medio ambiente, plantas e insectos (Murray, 2006), habitualmente colonizan diversas mucosas, especialmente las del tracto urinario y gastrointestinal, ya que las distintas infecciones suceden a partir de estas localizaciones. (Romero & Cabello, 2007).

Las Enterobacterias poseen cuatro antígenos importantes en su estructura:

- **Antígeno H:** es el antígeno flagelar, es termosensible (Romero, 1999).
- **Antígeno K:** es el antígeno capsular, formado por oligosacáridos o proteínas, puede interferir en la aglutinación del antígeno O (Romero, 1999).
- **Antígeno O:** es un antígeno somático, constituye la parte más externa del lipopolisacárido de la pared celular, formado por oligosacáridos, es termoestable y diverso entre miembros de la misma especie (Murray, 2006).
- **Antígeno F:** fimbrias o pili (Romero, 1999).



Figuras 1. Estructura antigénica de *Escherichia coli* (Murray, 2006).

## Factores de patogenicidad

Las bacterias pueden tener o producir los siguientes elementos como factores de virulencia:

- **Endotoxinas:** Uno de ellos es el lípido A, que son macromoléculas complejas que contiene en su interior fosfolípidos y lipopolisacáridos (LPS). Son constituyentes de la pared bacteriana y solo se liberan cuando la célula muere y se lisa. Su toxicidad reside en la fracción del lípido A, el LPS, se localiza en la fracción polisacárido. En las enterobacterias el lípido A siempre es el mismo y el polisacárido es variable. Y da lugar a antígenos O que aparecen en las distintas cepas (Romero, 2007).
- **Capsula:** Es especialmente útil para la bacteria como una fase protectora que hace más difícil la fagocitosis y con ello le da una mayor sobrevivencia a la bacteria.
- **Variación antigénica:** Como su nombre lo indica, consiste en variar sus antígenos y con ello presentar una diferente presencia inmune para la identificación y respuesta del huésped (Murray, 2006).
- **Factores de adherencia:** Las fimbrias colaboran de manera importantes para la adherencia de la bacteria a la superficie mucosa del huésped (Koneman *et al.*, 2008).
- **Plasmido:** Permite la transferencia de factores de patogenicidad y genes que otorgan resistencia antibiótica a otras bacterias (Romero, 2007).

## *Escherichia coli* y las infecciones del tracto urinario

*Escherichia coli*, es un bacilo corto gram negativo, anaerobio facultativo, perteneciente a las enterobacterias, se considera parte de la microbiota normal, pero algunas cepas son patógenas que pueden causar daño intestinal, extraintestinal o ambos, produciendo diferentes síndromes entre ellos el síndrome diarreico (Castro, 2000); así mismo se trata de un bacilo móvil (flagelos peritricos) o inmóvil, que se presenta aislado o en pares y capaz de fabricar exopolisacárido en algunas ocasiones que da un aspecto mucoso a la colonia, la mayor parte de ellas fermentan la lactosa y son capaces de producir indol a partir de triptófano. La colonización es el tracto gastrointestinal y el sitio más común de infección es el tracto urinario (Dalet, 1998).

*Escherichia coli* forma colonias lisas, circulares, convexas con bordes bien diferenciados, brillantes; en caso de pérdida de membrana las colonias son ásperas, planas, irregulares de aspecto granular. Las especies de mayor motilidad crecen en los medios de cultivo en forma no aislada, agrupándose en forma súper abundante de invasión máxima. (Brooks *et al.*, 2005); esta bacteria se encuentra normalmente en el intestino del ser humano y de otros animales. “Aunque no parece que su presencia tenga una función especialmente relevante, se ha descrito que la bacteria *Escherichia coli* favorece la absorción de algunas vitaminas, especialmente la vitamina K” (Marimon, 2014).

### Determinantes de patogenicidad

- **Las fimbrias:** Actúan por su capacidad de adherencia.
- **Los antígenos O y K:** Presentan propiedades antifagocitarias e inhibidoras cepas invasivas (Koneman *et al.*, 2008).
- **Endotoxina:** Ligada al lipopolisacárido, es responsable de la acción pirógena y probablemente de las alteraciones vasculares que se producen en las infecciones generalizadas (Jawetz *et al.*, 2009)
- **Exotoxinas:** Producidas por algunas cepas, son responsables de la producción de diarreas y su síntesis está codificada por la presencia de plásmidos (Murray, 2006).

### Clasificación taxonómica:

Dominio	: Bacteria
Filo	: Proteobacteria
Clase	: Gamaproteobacteria
Orden	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Género	: <i>Escherichia</i>
Especie	: <i>Escherichia coli</i> (Bergey, 2001).

### **Tipos de *Escherichia coli***

Existen cinco tipos de *Escherichia coli*: enteropatógeno, enterotóxico, enteroinvasivo, enterohemorrágico y enteroagregativa, de los cuales los más importantes son: enteropatógeno, enterotóxico, y enteroinvasivo.

- ***Escherichia coli* enteropatógena (ECEP):** Se da por diarrea en la infancia. En el intestino delgado se adhiere a las células del epitelio. Causando señales de transducción, producidos por la adherencia de la bacteria y ocasionar cambios. Entre los que se incluye: Separación del glucocalix y destrozamiento de las microvellosidades intestinales, daño en el borde del cepillo y por lo tanto disminución de absorción. Las microvellosidades intestinales desaparecen debido a que las bacterias se adhieren a los enterocitos y permite la acumulación de la actina del citoesqueleto, la bacteria se encuentra en adherencia íntima con la membrana de las células epiteliales, induciendo múltiples cambios en el citoesqueleto. (Romero, 1999)
- ***Escherichia coli* enterotóxica (ECET):** Tiene una acción en la parte superior del intestino delgado, produciéndose almacenamiento de líquidos. Por los plásmidos producen dos tipos de enterotoxinas: toxina termolábil (LT) y termoestable (ST) la última tiene una actividad después de incubarse a 100 °C durante 30 min. La toxina termolábil es muy semejante en estructura y función a la toxina colérica producida por *Vibrio cholerae* que actúa activando la adenilciclase, la cual a su vez transforma el ATP en AMP cíclico, produciendo un aumento de la secreción de agua y electrolitos. En cambio el mecanismo de acción de la toxina termoestable es a través de la activación de la guanilato ciclase, aumentando las concentraciones de GMPc dentro de la célula. El GMPc al igual que el AMPc es una importante molécula de señalización en la célula eucariota y los cambios en el GMPc afectan ciertos procesos celulares, como incremento en la secreción de cloro, inhibición de la absorción de cloruro de sodio o ambos, ello da lugar a una diarrea acuosa (Castro, 2000).
- ***Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI):** Tiene la capacidad de penetrar e invadir las células del epitelio intestinal, sobretodo en la mucosa del

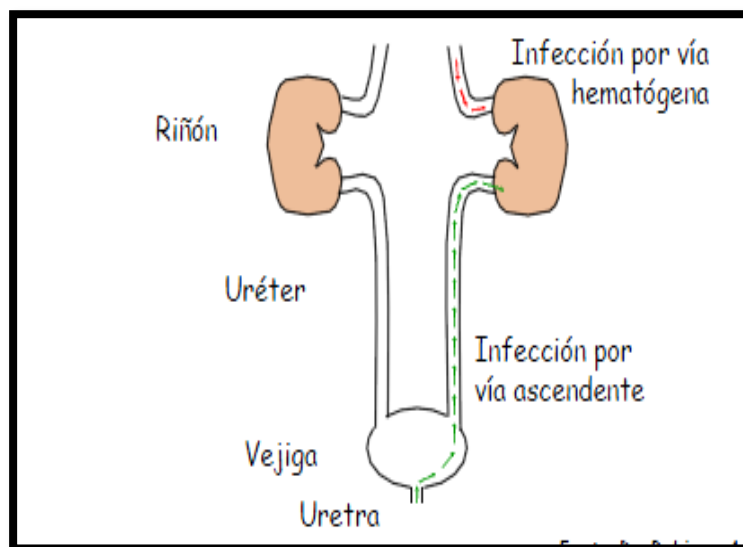
colon. Esta capacidad de penetración es debida a la presencia de antígenos superficiales, en especial de proteínas de la membrana externa, cuya síntesis está codificada por plásmidos. Este tipo de cepas produce un cuadro clínico semejante a la disentería bacilar (Romero, 1999)

- ***Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH):** Este tipo de cepas producen una o más toxinas denominadas shiga o verotoxinas, semejantes a la toxina shiga producida por *Shigella dysenteriae*. Se desconoce la patogenia de la enfermedad, pero puede implicar efectos directos de las toxinas sobre células epiteliales y endoteliales, o quizá está mediada por la respuesta inflamatoria del huésped. El cuadro clínico se caracteriza por: dolor abdominal intenso tipo calambre, diarrea abundante visiblemente sanguinolenta sin leucocitos fecales y fiebre ausente o de poca intensidad, síndrome urémico hemolítico, púrpura trombocitopenia y muerte (López, 2010).
- ***Escherichia coli* enteroagregativa (ECEA):** Las bacterias se identifica por su adherencia a células humanas, produce una enterotoxina termoestable parecido a la producida por ECET y una hemolisina. Se la ha encontrado en niños de edades entre 1 y 5 años, con diarrea acuosa sin sangre; en el moco fecal no se detecta leucocitos y en países industrializados produce enfermedades por alimentos contaminados (Brooks, 2005).

### **Infecciones del tracto urinario**

La infección del tracto urinario (ITU), es la invasión, colonización y multiplicación de gérmenes en el tracto urinario, se caracteriza por la presencia de microorganismos a cualquier nivel, desde el extremo distal de la uretra hasta el corte renal (uretra, vejiga, prostata, ureteres, pelvis renal o riñones), se manifiesta en personas de ambos sexos. (coronel, 2003); *Escherichia coli* accede al sistema genitourinario a través del periné desde el tubo digestivo, fundamentalmente en las mujeres por presentar una uretra más corta, puede originar bacteriemias y su posteriormente una diseminación a otros tejidos. 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 (Echevarría, 2006).



**Figuras 2.** Vías de acceso de la infección urinaria (Rodríguez, 2010).

### **Epidemiología de las infecciones del tracto urinario**

Las infecciones del tracto urinario son de gran importancia por su prevalencia. Aproximadamente el 20% de las mujeres jóvenes son comúnmente afectadas, a partir de los 18 a los 40 años desarrollan una infección urinaria a lo largo de su vida, el factor de riesgo más importante es el haber tenido relaciones sexuales recientes, así también el uso de espermicidas, en el niño y en el adulto joven tanto la bacteriuria como la infección sintomática son muy raras; es la infección nosocomial más frecuente en España y ocupa el segundo lugar de las infecciones atendidas por equipos de atención primaria (Carmona & Alonso, 2008); Por otro lado más del 95% de las ITU son monobacterianas siendo *Escherichia coli* el microorganismo más frecuentemente implicado en la infección aguda y en infecciones producidas en pacientes ambulatorios. Sin embargo se estima que globalmente ocurren al menos 150 millones de casos de infecciones del tracto urinario por año, en Estados Unidos 7 millones de consultas por una ITU, en el Perú se desconocen cifras exactas de su incidencia pero es muy probable que sean similares a las de Estados Unidos (Ochoa *et al.*, 2005).

La distribución epidemiológica no es uniforme, variando su incidencia en función de la edad y el sexo, la incidencia estimada de las infecciones del tracto



urinario en los hombres jóvenes, con respecto a las mujeres de la misma edad es significativamente inferior, las infecciones urinarias son más frecuentes en la población infantil y en personas mayores de 65 años y para la población infantil se debe a malformaciones o problemas funcionales que pueden favorecer las infecciones. En cuanto en el grupo de edad más avanzada el factor de riesgo más importante es la obstrucción urinaria producida por el crecimiento prostático (tanto de origen benigno como maligno) (Echevarría, 2006).

### **Clasificación de las infecciones del tracto urinario**

Las infecciones del tracto urinario se dividen en infecciones de vías altas y bajas, describiéndose cuatro síndromes principalmente: uretritis, cistitis, prostatitis y pielonefritis.

En las infecciones urinarias de vías bajas, se incluyen:

1. 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 (Sherris, 2010).
2. La uretritis, inflamación de la uretra, generalmente causada por infecciones de transmisión sexual (Murray, 2006).
3. La prostatitis, inflamación de la próstata, aguda o crónica (Sherris, 2010).

### **Factores predisponentes de infección del tracto urinario**

Los factores de riesgo asociados a una infección urinaria en mujeres, varían en función de la edad y de su estado hormonal de la persona, si es o no menopáusica. En mujeres pre menopáusicas el mayor factor de riesgo es el coito, mientras que en mujeres menopáusicas, es la ausencia de estrógenos que están en un estado no secretor y en edad avanzada así también infuye la incontinencia urinaria, el sondaje y el estado funcional de su aparato urinario (Casellas, 2008); durante los primeros años de vida los hombres y mujeres tienen un riesgo similar de desarrollar la infección, dicha infección aumenta 50 veces en las mujeres entre los 16 y 34 años, a diferencia de varones, en donde menores de 50

años la Infección del tracto urinario es rara, aunque puede ocurrir, debido a una asociación al coito anal, infección por HIV o sobretodo en homosexuales (Carmona & Alonso, 2008).

### **Mecanismo de patogenicidad de *Escherichia coli***

Las vías urinarias son normalmente estériles, la esterilidad se conserva por lo general de mecanismos de defensa los cuales el más importante cuando hay un vaciamiento del contenido vesical. El mecanismo de patogenicidad de las infecciones urinarias inicia con la fijación de las bacterias a la superficie celular del epitelio urotelial seguida por una invasión ya que son infecciones ascendentes causadas por microorganismos de la flora normal intestinal. Dentro de esta se han desarrollado dos teorías como: La teoría de la prevalencia en donde menciona que *E. coli* produce una infección urinaria por una mayor abundancia de la flora normal intestinal; y una segunda teoría, que es la teoría de patogenicidad especial, donde las causas de la infección urinaria está dada por que solo unas cuantas cepas poseen propiedades o factores de virulencia que permiten infectar el tracto urinario (Grunebey, 1998)

### **Factores de virulencia de *Escherichia coli* implicados en la infección urinaria**

Son todas las estructuras o productos bacterianos que intervienen en el proceso infeccioso, tienen alta capacidad de motilidad ascendente, el cual facilita la colonización de la vejiga, uréteres y riñones (Rojas *et al.*, 2006); *Escherichia coli* mediante sus adhesinas fimbriales se adhieren a las mucosas, siendo el primer paso para la colonización bacteriana, para luego ligarse a los receptores de las células periuretales y uroepiteliales constituyendo una colonización inicial en la mucosa vesical (Mandel *et al.*, 2004); dentro de ella tenemos a las fimbrias P que se unen a los receptores de glucolípidos en la superficie de las células huésped, luego se encapsulan, por otra parte producen toxinas como la endotoxina citolítica, hemolisina y de tener múltiples sistemas de adquisición de hierro. Luego la bacteria sale de su nicho intracelular y se adhieren a otras células del huésped logrando así un ciclo infeccioso, durante este proceso las células infectadas de la vejiga son arrojadas a la orina mientras que los

neutrófilos son atraídos al sitio de la infección y por último poseen plásmidos que juegan un papel importante en la codificación de información para su acción patógena y resistencia a los antimicrobianos (Murray *et al.*, 2006).

Los criterios más relevantes en la elección de un antibiótico para el tratamiento de las ITUs, que sea fácil para el cumplimiento terapéutico y que presente una eliminación urinaria elevada y mantenida (Andreu *et al.*, 2005).

- Elevada tolerabilidad y mínima toxicidad.
- De espectro reducido, con el fin de no seleccionar resistencias
- Con buena relación Costo-efectividad (eficiencia).
- Vía de administración parenteral/oral.
- Mecanismo de acción bactericida.

### 2.2.2 Antibióticos betalactámicos

Los antibióticos betalactámicos constituyen el principal grupo de antibióticos y el más utilizado para el tratamiento de las infecciones humanas. Son antibióticos bactericidas, es decir bloquean los procesos de síntesis y reparación de la pared bacteriana produciendo la lisis de la célula. Una consecuencia de este mecanismo de acción es que estos antibióticos actúan siempre en la fase de reproducción celular y por tanto no son efectivos contra formas latentes ni contra gérmenes sin pared bacteriana como los micoplasmas (Marín & Gudiol, 2003); estos antibióticos presentan como estructura básica el anillo betalactámico, formado por la condensación de alanina y beta dimetilcisteína.

#### Mecanismo de acción

Actúan de forma impidiendo la síntesis de la pared de las bacterias, inhibiendo la síntesis del peptidoglicano, que es el principal componente que confiere y rigidez a la bacteria, cubriéndola de la rotura osmótica. Estos antibióticos se unen a lo que toma el nombre como proteínas ligadoras de penicilinas (PBP), cuya función es catalizar una serie de reacciones de transpeptidación y carboxipeptidación necesarias para la síntesis del peptidoglicano de la pared bacteriana (Marín & Gudiol, 2003); cuando la bacteria se divide y multiplica, pasa por varias etapas, en la tercera etapa o crecimiento logarítmico de la bacteria, ocurre la modificación si está en presencia de un antibiótico

betalactámico, se produce una pared deficiente. El exterior de la bacteria es hiperosmótico, las paredes deficientes permiten el ingreso de líquido, la bacteria se hincha y estalla. De esta forma los betalactámicos ejercen su acción bactericida (Tripathi, 2005).

### **Clasificación de los antibióticos betalactámicos**

#### **a) Penicilinas:**

Son un grupo de antibióticos de origen natural y semisintético. Las penicilinas contienen un anillo betalactámico y un anillo de tiazolidina, formando el ácido 6-aminopenicilánico. Presentan una cadena lateral en la posición 6, que varía de unas penicilinas a otras y es la que define sus propiedades. Esta sustancia actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular de la bacteria. Son activas frente a cocos Gram positivos y enterobacterias aunque se inactivan por la enzima penicilinasasa (Forbes, 2009); existen también penicilinas de amplio espectro como la ampicilina y la amoxicilina, estas también pueden ser utilizadas con inhibidores de betalactamasas como son el ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam (Suarez & Gudiol, 2009).

#### **b) Cefalosporinas:**

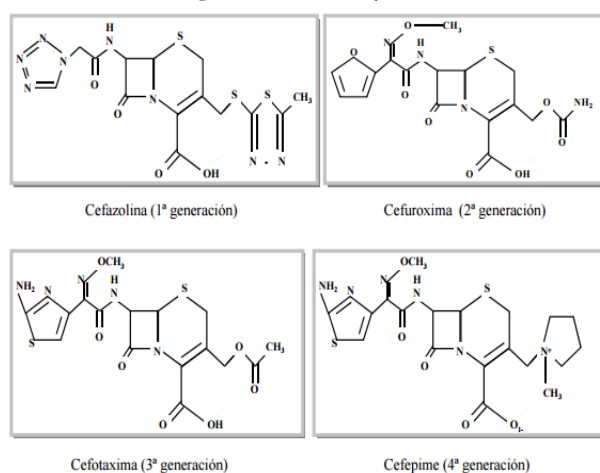
Las cefalosporinas, son una clase de los antibióticos betalactámicos. Junto con las cefamicinas pertenecen a un subgrupo llamado los cefamos y son más estables ante muchas betalactamasas bacterianas (Tripathi, 2005). Las cefalosporinas tienen una estructura similar a las penicilinas, pero posee un anillo betalactámico de hidrotiacina en lugar del anillo betalactámico-tiazolidina de la penicilina (Suarez y Gudiol, 2009).

Estas se clasifican por generaciones:

- **Primera generación:** Presentan una actividad frente a las bacterias grampositivas y también frente a las bacterias gramnegativas. Como por ejemplo: cefalotina, cefalozolina, cefaclor.
- **Segunda generación:** Tienen un mejor espectro como la actividad frente a los microorganismos gramnegativos. Ya que amplían su espectro frente a bacterias gramnegativas de origen comunitario, como por ejemplo la

cefuroxima, cefamandol y unidos a ellas las cefamicinas como cefoxitina y cefminox.

- **Tercera generación:** se caracterizan por una elevada actividad y espectro sobre las enterobacterias, a excepción de las cepas de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) hiperproductoras (Velázquez & Fernández, 2008). Por ejemplo: cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona.
- **Cuarta generación:** Son más activas y más resistentes a la acción de betalactamasas. (Suarez & Gudiol, 2009). como por ejemplo: Cefepime.



**Figuras 3.** Cefalosporinas representativas de cada grupo (Sorlozano, 2004).

### c) Monobactámicos

Los monobactámicos son un grupo de antimicrobianos clasificados dentro de los antibióticos betalactámicos, muchas moléculas monobactámicas provienen de gérmenes que proceden del suelo. Usado principalmente en infecciones del tracto urinario o sepsis por Gram negativas (Blanc, 2007).

### d) Carbapenemasas

Su estructura consiste en la unión de un anillo betalactámico con un anillo pirrolidinico compartiendo un nitrógeno, imipenem, meropenem y ertapenem los mas importantes. Presentan un amplio espectro de actividad y una gran resistencia a todas las betalactamasas, tanto cromosómicas como plasmídicas, pero se inactivan por las denominadas carbapenemasas, no deben utilizarse como tratamiento de primera línea, (Blanc, 2007).

### **Inhibidores de betalactamasas**

Los inhibidores de las betalactamasas son moléculas que contienen en su estructura un anillo betalactámico ya que tienen afinidad por las betalactamasas. Para ser eficaces deben atravesar los canales porínicos y alcanzar el espacio periplásmico en los bacilos gram negativos a concentraciones adecuadas lográndose la inactivación de las betalactamasas. Las distintas betalactamasas difieren en la afinidad por sus sustratos. Actualmente existen tres inhibidores de estas enzimas (el ácido Clavulánico, el Sulbactam y el Tazobactam) para uso clínico. (Barcelona, *et al.*, 2008)

#### **Ácido clavulánico**

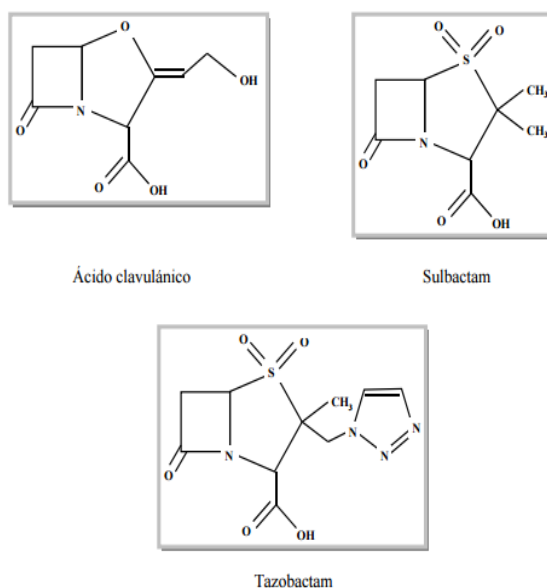
Tiene un anillo betalactámico pero no presenta actividad antibacteriana, su núcleo consta de axazolidina, análogo al de las penicilinas, pero se sustituye el átomo de azufre por uno de oxígeno y carece de la cadena lateral acilamino en posición 6. Inhibe una gran variedad de betalactamasas producidas tanto por bacterias gram positivas como gram negativas; es un inhibidor progresivo que se une con las betalactamasas reversiblemente al principio, pero esta unión se vuelve luego covalente. Llamado Inhibidor “suicida”, se inactiva después de unirse a la enzima. Ingresa en las capas externas de la pared celular de las bacterias gram negativas e inhibe a las betalactamasas periplasmáticas (Barcelona, *et al.*, 2008)

#### **Sulbactam**

Es una sulfona semisintético del ácido penicilánico. También es un inhibidor progresivo, muy activo y en igual cantidad es 2 a 3 veces menos potente que el ácido clavulánico para la mayoría de los tipos de enzimas, pero puede obtenerse el mismo nivel de inhibición con las concentraciones más altas (Barcelona, *et al.*, 2008).

#### **Tazobactam**

El tazobactam posee un grupo triazol, mayor actividad que el sulbactam frente a bacterias que producen cefalosporinasas de origen cromosómico, betalactamasas de amplio espectro o betalactamasas mediadas por plásmidos, el tazobactam tiene una pequeña actividad antibacteriana. (Barcelona, *et al.*, 2008).



**Figuras 4.** Inhibidores de betalactamasas (Sorlozano, 2004).

## Mecanismos de resistencia bacteriana

### Generalidades

Las bacterias a lo largo del tiempo han producido una amplia variedad de mecanismos de resistencia, con el fin de contrarrestar el efecto de los antibióticos, caracterizada por la capacidad natural o adquirida por parte de una cepa bacteriana de desarrollar mecanismos de defensa, frente a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de los antibióticos, provocando la pérdida de acción de estos medicamentos generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos. (Avellaneda, 2010); el aumento de la resistencia bacteriana a nivel mundial ha hecho necesario conocer los mecanismos involucrados en dicha resistencia, debido a que puede ayudar a optimizar el uso de antibióticos y establecer medidas para controlar la diseminación de estos mecanismos de resistencia, con el objeto de mejorar los tratamientos para diversas infecciones (Ambuila *et al.*, 2015).

### Tipos de resistencia

#### Resistencia Adquirida

Las bacterias a lo largo del tiempo han producido una amplia variedad de mecanismos de resistencia, con el fin de contrarrestar el efecto de los

antibióticos. Sin embargo estas bacterias han sido modificadas genéticamente por mutación o por adquisición de genes de resistencia (plasmidos, transposones e intrones). Todos los mecanismos de resistencia adquirida están codificados en forma genética. (Van Hoek *et al.*, 2010). Los métodos de adquisición son básicamente los mismos que permiten el cambio o el intercambio de genes (Forbes, 2009).

La resistencia puede adquirirse por:

- Mutaciones genéticas exitosas
- Mecanismo de transferencia génica
- Combinación de mutación y de transferencia génica (Forbes, 2009).

### **Resistencia Natural o intrínseca**

Es la resistencia a los antimicrobianos del estado normal genético, estructural o fisiológico de un microorganismo, se considera que 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 de bacteria particular. Estos son útiles para determinar qué agentes antimicrobianos deben incluirse en la batería de fármacos que se probarán contra tipos específicos de microorganismos, ya que los perfiles de resistencia intrínseca son útiles para determinar que agentes antimicrobianos deben incluirse en la batería de fármacos que se probaran contra tipos específicos de especies (Forbes, 2009).

### **Clases de mecanismos de resistencia bacteriana**

Desde el punto de vista molecular y bioquímico existen básicamente tres mecanismos por medio de los cuales una bacteria puede hacerse resistente al efecto del antibiótico, la resistencia de los bacilos gram negativos a los antibióticos betalactámicos puede ser debida a varios mecanismos, estos son:

- Alteración de permeabilidad.
- Inactivación del antibiótico.
- Alteración del sitio blanco del antibiótico

### **Barreras de permeabilidad**

Incluye tres componentes básicos:



- La estructura de la membrana externa de la bacteria.
- Las porinas: Canales proteicos que permiten el paso de moléculas hidrofílicas como algunos nutrientes y eliminan antibióticos por tamaño molecular.
- Características fisicoquímicas del antimicrobiano: En el caso de los medicamentos hidrofílicos (Imipenem) requieren presencia de porinas para su transporte al interior de la célula.

Existen fundamentalmente dos mecanismos de resistencia:

#### **Entrada disminuida:**

**1. Permeabilidad de la membrana externa:** claramente definida en los microorganismos Gram negativos que poseen una membrana lipídica externa que constituye una barrera intrínseca para la penetración de antibiótico.

**2. Permeabilidad de la membrana interna:** otra forma de resistencia de la bacteria consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva el antibiótico hacia el interior de la célula. La presencia de capa lipídica en la membrana actúa como un mecanismo de resistencia para medicamentos hidrofóbicos (Gobernado, 2005).

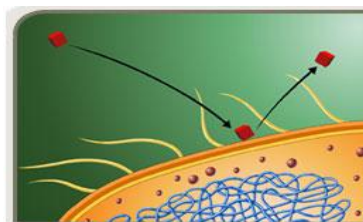
**3. Porinas:** son canales de difusión presentes en la membrana externa de la bacteria. De la modificación por mutación de estas proteínas se genera una disminución del paso del antibiótico. Éste es el mecanismo empleado por *Salmonella typhimurium* (OmpC) contra cefalosporinas de primera generación, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* contra aminoglucósidos y carbapenem.

#### **Flujo activo**

Es debido a la presencia de proteínas de membrana especializadas. Se altera la producción de energía y se disminuye no solamente la entrada del antibiótico sino que a su vez las bacterias reducen la concentración del antibiótico y se promueve la extracción activa. Confiere resistencia a tetraciclinas, fluoroquinolonas, cloramfenicol y Betalactámicos (Forbes, 2009).

La resistencia de los bacilos gram-negativos a los antibióticos betalactámicos puede ser debida a varios mecanismos, que en ocasiones se asocian:

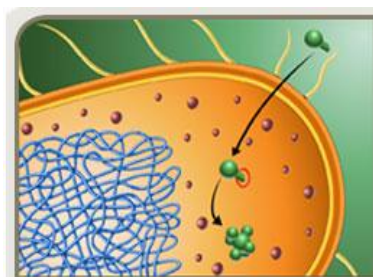
**Alteración de la permeabilidad.**-La membrana externa en las bacterias gram negativas dificulta el paso de sustancias hidrofílicas, como los antibióticos betalactámicos, los cuales necesitan los poros proteicos (porinas) para tal fin. Generalmente por mutaciones que afectan a las porinas, se produce una disminución de la concentración del antibiótico en el interior de la célula (Bianchini, 2008).



**Figuras 5.** Alteración de la permeabilidad

**Alteración del sitio blanco.**-impidiendo o dificultando la acción del antibiótico. Aquí podemos contemplar las alteraciones a nivel del ADN girasa (resistencia de quinolonas), del ARNr 23S (macrólidos) y de las enzimas PBPs (proteínas de unión de penicilina) necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a betalactámicos) (Murray, 2006). Además se modifican algunos sitios específicos de la anatomía celular, como pared celular, subunidades ribosomales, etc (koneman, 2008)

Existen modificaciones a nivel de múltiples subunidades como 30s, 50s. Sitios de acción de aminoglucósidos, lincosamidas, macrólidos y tetraciclinas.



**Figuras 6.** Alteración del sitio blanco

**Mecanismo enzimático.**-Se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico, la producción de betalactamasas es el mecanismo de resistencia más importante frente a los antibióticos betalactámicos. (Crespo, 2002). Son enzimas de naturaleza proteica cuya síntesis está controlada por un gen, bien cromosómico o bien transferido por plásmidos. Como en el caso de

los betalactámicos, los que actúan inhibiendo la enzima D-alanil carboxipeptidasa (PBPS) encargada de la síntesis de la pared. La betalactamasa hidroliza el enlace amida del anillo penicilánico o cefalosporínico resultando un derivado ácido inactivo. Otra vía para la inactivación del antibiótico es la “modificación enzimática” del mismo (Canton *et al.*, 2008).

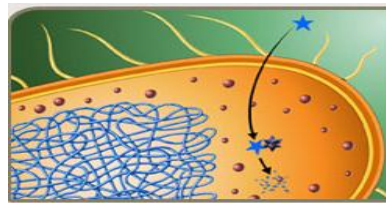


Figura 7. Mecanismo enzimático

**Expresión de bombas de eliminación activa.-** Son bombas de flujo que bombean al antimicrobiano al exterior. Produce resistencia bacteriana a determinados antimicrobianos.

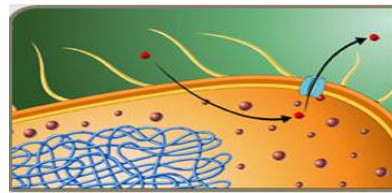


Figura 8. Bombas de flujo

**Mecanismos de resistencia bacteriana**

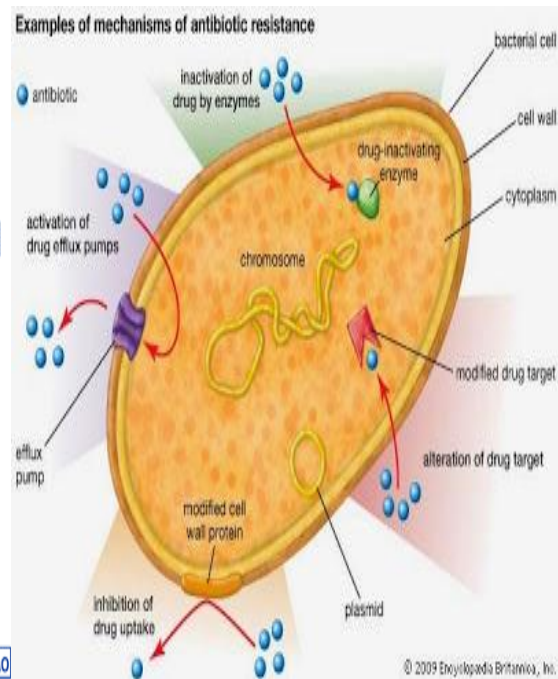
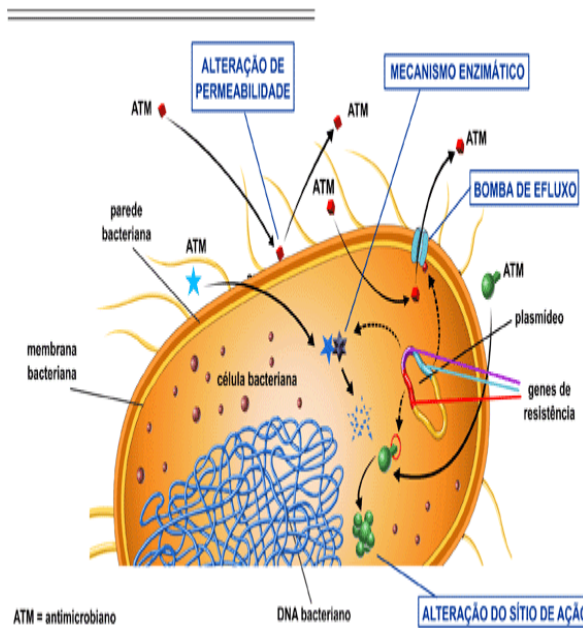


Figura 9. Mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos.

### 2.2.3 Betalactamasas

Las betalactamasas son la mayor defensa de las bacterias gram negativas frente a los antibióticos betalactámicos. Son enzimas que son responsables de la gran parte de fracasos terapéuticos ya que hidrolizan el anillo betalactámico para así inactivarlo. Están ampliamente distribuidas en bacterias tanto gram positivas como gram negativas, que constituye el mecanismo de resistencia más común en contra de los antibióticos betalactámicos (Ambler, 1980). Las betalactamasas pueden ser: betalactamasas de espectro ampliado (BLEA) activas frente a penicilinas y cefalosporinas de primera generación, y betalactamasas de espectro extendido (BLEE) activas frente a cefalosporinas de tercera generación.

Las betalactamasas de las bacterias gram negativas permanecen dentro de la célula e inactivan los betalactámicos en el espacio periplásmico (es el espacio entre la membrana externa y la membrana citoplásmica), los genes que codifican a las betalactamasas pueden ubicarse en el cromosoma bacteriano como las Cefalosporinasas de tipo AmpC de las enterobacterias, como también en los elementos extracromosomales como: plásmidos, transposones e integrones. Las betalactamasas plasmídicas son diferentes a las cromosómicas con la excepción de la SHV-1 que es plasmídica y también cromosómica típica de *Klebsiella pneumoniae* (Bianchini, 2008).

#### **Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)**

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que fenotípicamente se caracterizan por conferir resistencia a penicilinas y cefalosporinas, incluyendo las de tercera y cuarta generación. Pueden ser inhibidas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de Betalactamasas como el tazobactam y el sulbactam. Muchas de ellas tienen la característica de ser multiresistentes, ya que son portadoras de otros genes que provocan resistencia a las quinolonas, aminoglucósidos, cotrimoxazol, etc. (Jawetz *et al.*, 2009); por otro lado las cepas que producen BLEE, en particular *Escherichia coli*, son resistentes a todos los antibióticos betalactámicos con la excepción de las carbapenemas, las cefamicinas y las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas. Por lo general, cuando hablamos de BLEE nos

referimos únicamente a las enzimas de codificación plasmídica ya que son éstas las que suponen un mayor problema epidemiológico debido a su elevada capacidad de diseminación. (Oliver & Cantón, 2004).

### **Clasificación de las Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)**

Existen diferentes propuestas en cuanto a la clasificación de estas enzimas. El primero de ellos fue clasificarlas en penicilinasas y cefalosporinasas que hidrolizan penicilinas y cefalosporinas respectivamente. Más adelante fueron clasificadas por su perfil de sustrato, seguidamente de su punto isoeléctrico, peso molecular, ubicación de genes y así por su origen cromosómico o plasmídico. En datos de secuencia parcial del ADN de las betalactamasas, Ambler en 1980 propone clasificarlas en cuatro clases: A, B, C y D. Las enzimas de clase A, cuyo prototipo es la enzima TEM-1, (actualmente presente en más del 50% de los aislamientos de enterobacterias en general), están codificadas en plásmidos y su peso molecular oscila entre 25 y 30 kD., al igual que las de clase B y D (Morales *et al.*, 2005).

Los dos principales son: clasificación de Ambler y la de Bush.

- **Clasificación de Ambler:** Es basada en la estructura molecular de la betalactamasa y su secuencia de aminoácidos, reconoce cuatro tipos moleculares designados desde la A hasta D. Los tipos A, C y D corresponde a enzimas que contienen serina en su sitio activo y las betalactamasas de tipo B corresponde a las metaloenzimas.
- **Clasificación de Bush:** Se fundamenta en los sustratos que la betalactamasa hidroliza y en la inhibición de su actividad por compuestos como el ácido clavulánico y otros, dando lugar a cuatro grupos de acuerdo a los sustratos hidrolizados y perfiles de inhibición.
  - **Grupo 1:** Corresponden a enzimas con acción cefalosporinasa, no inhibibles ni por ácido clavulánico ni por EDTA, y que se correlacionan con las enzimas cromosómicas de bacilos Gram negativos de tipo AmpC (Bush *et al.*, 2004).
  - **Grupo 2:** Están constituidas por penicilinasas y cefalosporinasas inhibibles por ácido clavulánico, y coinciden mayoritariamente con el tipo A de Ambler. Se incluyen 138 betalactamasas.

- **Grupo 3:** Metalo betalactamasas que confieren resistencia a los carbapenems Incluye la mayoría de las  $\beta$ -lactamasas que son inhibidas por EDTA y también por ácido clavulánico. Compuesto por metaloenzimas incluyendo carbapenems.
- **Grupo 4:** Un grupo poco importante no descrito por Ambler que incluye penicilinasas no inhibibles por ácido clavulánico (Bush *et al.*, 2004).

**Tabla 1.** Clasificación de betalactamasas según Bush, Jacoby, Medeiros y Ambler (Bush, 2010)

Grupo Bush-Jacoby (2009)	Clase molecular (subclase)	Substratos preferidos	Inhibidos por:		Principales Características	Enzimas representativas
			AC <sup>1</sup>	EDTA		
1	C	Cefalosporinas	No	No	Mejor hidrólisis de cefalosporinas que de benzylpenicilina	AmpC, P99, ACT-1, CYM-2, FOX-1, MIR-1.
1e	C	Cefalosporinas	No	No	Hidrólisis incrementada hacia cefatazidima y otros oximino-beta-lactámicos	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilinas	Sí	No	Mejor hidrólisis de benzilpenicilina que de cefalosporinas	PC1
2b	A	Penicilinas, cefalosporinas	Sí	No	Hidrólisis similar de benzilpenicilinas y de cefalosporinas	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	Sí	No	Hidrólisis incrementada hacia cefatazidima y otros oximino-beta-lactámicos (cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefepime)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicilinas	No	No	Resistencia a ácido clavulánico, sulfabactam y tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	No	No	Hidrólisis incrementada hacia oximino-beta-lactámicos combinados con resistencia a AC, sulfabactam y tazobactam	TEM-50
2c	A	Carbenicilinas	Sí	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbenicilinas, cefepime	Sí	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina, cefepime y ceftiprome	RTG-4
2d	D	Cloxacilina	Variable	No	Hidrólisis incrementada de la cloxacilina o de la oxacilina	OXA-1, OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro extendido	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y oximino-beta-lactámicos	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenems	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro extendido	Sí	No	Hidrólisis de cefalosporinas. Inhibido por ácido clavulánico pero no por aztreonam	CepA
2f	A	Carbapenems	Variable	No	Hidrólisis incrementada de carbapenems, oximino-beta-lactámicos, cefamicinas	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B (B1)	Carbapenems	No	Sí	Hidrólisis de espectro extendido incluyendo carbapenems pero no monobactams	IMP-1, VIM-1, CrA, IND-1
	L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1					
3b	B (B2)	Carbapenems	No	Sí	Hidrólisis preferente de carbapenems	CphA, Sfh-1

Adaptado de : Bush y Jacoby, 2010<sup>(8)</sup>.

<sup>1</sup> AC: ácido clavulánico

## EPIDEMIOLOGÍA DE LAS ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE 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 están detectando en infecciones adquiridas en comunidad (Gobernado, 2005); la primera BLEE (SHV-2) fue descrita en una cepa de *Klebsiella ozaenae* en Alemania en 1983. Desde entonces ha existido una gran cantidad de brotes epidémicos de enterobacterias con BLEE; durante las décadas de los 80 y principios de los 90, la inmensa mayoría de las BLEE encontradas eran del tipo TEM o SHV, lo que indica la gran variación evolutiva que han sufrido estas enzimas en un corto periodo de tiempo debido, esencialmente, a la presión selectiva de los antibióticos. (Oliver & Cantón, 2004).

En España entre los años de 1994 y 1996, el porcentaje de aislamiento BLEE fue 0,14% para *Escherichia coli*. En los años 1997-1999 los porcentajes de cepas productoras de BLEE aisladas fue de 0,5% para *Escherichia coli*. La prevalencia de cepas productoras de BLEE positivas para *Escherichia coli* fue del 0.5%, durante el período de marzo a junio del año 2.000, en el mismo país, la tasa más alta de producción de BLEE fue encontrada en aislamientos provenientes de América Latina (34,6 %), comparado con Europa (19,7 %) y Norte América (10 %); en el Perú, hay muy pocos estudios que han evaluado este tema. En una publicación reciente, hemos mostrado que la producción de BLEE en *Klebsiella* y *Escherichia coli* aisladas de hemocultivos de nueve hospitales de Lima durante el 2008-2009 fue de 75,1% y 76,8 %, respectivamente. Además, se demostró que las enterobacterias productoras de BLEE tenían niveles de resistencia mayores a los otros grupos de antimicrobianos, hallazgo que se ha visto en casi todos los otros estudios mencionados. Ninguna cepa fue resistente a carbapenemes (García, 2012).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ámbito de estudio

La investigación se realizó en el Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” de la ciudad de Puno, del servicio de Laboratorio y Patología clínica, en el área de microbiología. El Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” - Puno se encuentra ubicado en la Av. El Sol 1022 barrio Victoria, distrito, provincia, y región de Puno, ubicado en la parte sureste del territorio peruano, entre las coordenadas geográficas: 15° 50’ 15’’ latitud sur y 70° 01’ 18’’ longitud oeste del meridiano de Greenwich. Altitud aproximadamente entre los 3820 msnm. Su clima se caracteriza por ser templada y tolerable por la proximidad del lago Titicaca (SENAMHI, 2012).

#### 3.2. Unidad de análisis

La unidad de observación estuvo conformada por pacientes que asisten al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”- Puno, con diagnóstico presuntivo de infecciones del tracto urinario, de los cuales se aisló el uropatógeno *Escherichia coli*; en este estudio se incluyeron, muestras procedentes de los pacientes ambulatorios de consultorio externo.

#### 3.3. Tipo de estudio

El trabajo de investigación corresponde al tipo de estudio descriptivo de corte transversal porque el estudio se realizó en un momento y tiempo definido.

#### 3.4. Población y muestra

**Población:** La población estuvo constituida por pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” Puno, con diagnóstico presuntivo de infección del tracto urinario (ITU) que asisten al consultorio externo, servicio de urología. Durante los meses de diciembre 2016 a febrero del 2017.

**Muestra:** La muestra fue representada por 44 pacientes (Anexo A) con infección del tracto urinario todos ellos con urocultivos positivos. Las cepas productoras de BLEE, fueron seleccionados mediante el diseño de muestreo probabilístico simple en aquellos que cumplan con los siguientes criterios, desde diciembre 2016 a febrero del 2017.



### **Criterios de inclusión**

- Muestras provenientes del consultorio externo, servicio de urología.
- Todos los pacientes que presentan diagnóstico de ITU.
- Pacientes con urocultivo positivo con recuento  $\geq 10^5$  UFC/ml, de muestra tomada del chorro medio previa asepsia.

### **Criterios de exclusión**

- Muestras que no cumplan con criterios de calidad para urocultivo.
- Muestras de pacientes que se encuentran en tratamiento con antibióticos los quince días anteriores a la toma de muestra.
- Cultivos que presenten microorganismos diferentes a *Escherichia coli* uropatógena.

## **3.5. Metodología**

Para la realización de esta investigación primeramente se coordinó con el jefe del departamento de laboratorio clínico y anatomía patológica del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” y con el personal que labora en el área de microbiología de dicho servicio, para la ejecución del presente trabajo de investigación. La investigación se basó en el manual de procedimientos en microbiología del Instituto Nacional de Salud INS (2010). El trabajo se realizó siguiendo un flujograma para *Escherichia coli*: aislamiento, identificación, sensibilidad, detección y confirmación de uropatógenos productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (Anexo C), a continuación se presenta los procedimientos realizados en el trabajo de investigación de acuerdo a los objetivos planteados.

### **1. Determinación de *Escherichia coli* como causa de infecciones del tracto urinario (ITU) en pacientes que acuden del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno**

#### **a) Recolección de muestra**

Una muestra de orina debe analizarse lo más rápido. Si esto no es posible, debe guardarse en refrigeración hasta el momento de su procesamiento. Cuando se deja algún tiempo, se inicia la descomposición de la muestra por la presencia de bacterias: se degrada la urea, se produce amoníaco y se incrementa el pH (Mendo, 1990).

**Procedimiento:** Se recolecto 10 ml de muestra de orina del chorro medio de la primera micción del día en un frasco recolector estéril, tras la limpieza de los labios mayores o el glande con jabón y agua. (Mins *et al.*, 1995). Las muestras de orinas fueron recepcionadas por el servicio de laboratorio clínico, luego fueron rotuladas y se registraron los datos en las fichas clínicas.

### **Método: Urocultivo cuantitativo**

**Técnica:** Aza calibrada

**Fundamento:** El urocultivo se basa en el proceso de crecimiento de microorganismos a partir de muestras de orina mediante un medio artificial, con la identificación del número y tipos de bacterias presentes en la orina, utilizando la técnica de siembra con asa calibrada, que cargan un volumen aproximadamente de 0.001 y 0.01ml de orina y así poder realizar un recuento bacteriano y la identificación de las bacterias presentes en la orina. Lo que debe ser confirmado por un cultivo de orina con un recuento de colonias superior a 100 000 UFC/ml. (Koneman *et al.*, 2008).

### **Procedimiento**

La siembra se realizó en el medio agar Mac Conkey, se flameo una aza calibrada de 10 ul de alambre y se la dejo enfriar sin tocar ninguna superficie. Se mezcló la orina con cuidado y se quitó la tapa del recipiente, se introdujo el aza en sentido vertical para permitir que esta se cargue en ella, se sembró en estrías la orina sobre la superficie de la placa de agar. Se incubaron las placas durante 24 horas a 35-37 °C en aerobiosis para que al día siguiente se contarán las colonias de cada placa. El número de UFC se multiplica por 1000 (si se usó un asa de 0.001 ml) o por 100 (si se usó un asa de 0.01 ml), para determinar la cantidad de microorganismos por mililitro en la muestra original. (Forbes *et al.*, 2009).El medio de cultivo que se uso fue:

### **Cultivo en agar MacConkey**

**Fundamento:** Contiene cristal violeta y sales biliares como inhibidores de microorganismos grampositivos. Las colonias aisladas de bacterias que fermentan la lactosa son rosadas y pueden estar rodeadas de una zona de precipitado de sales biliares, el cual es debido a una caída en el pH por la

fermentación de la lactosa; las colonias que no fermentan la lactosa permanecen incoloras. Las peptonas, aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, y la mezcla de sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de gran parte de la flora grampositiva y el agar es el agente solidificante (Koneman *et al.*, 2008).

**Procedimiento:** Se cogió el frasco con la muestra de orina para luego abrir la tapa y flamear la boca del frasco en el mechero Bunsen, seguidamente se alzó la muestra de orina con el asa de Koll calibrada en forma vertical esto previamente esterilizada para luego inocular en el centro de la placa y extender la muestra de arriba hacia abajo mediante una siembra por estría para obtener colonias aisladas, se llevaron a incubar las placas a una temperatura de 35 – 37°C en condiciones aeróbicas por 24 horas. Luego ver las características culturales de la colonia (Sherris, 2010).

### **Interpretación**

Las colonias fermentadoras de lactosa dan un color rosado. Las colonias no fermentadoras de lactosa son incoloras, esto es debido por el comportamiento del indicador de pH.

### **Pruebas de identificación bioquímica para *Escherichia coli* uropatógeno**

Una vez que se confirmó que el microorganismo es una enterobacteria se procedieron a realizar diversas pruebas bioquímicas para identificar la especie *Escherichia coli* uropatógeno, para dicha identificación esto se realizó la siembra en:

#### **Agar triple azúcar hierro (TSI)**

##### **Fundamento**

El agar TSI se utiliza para determinar si un bacilo gramnegativo utiliza la glucosa, la lactosa o la sacarosa de manera fermentativa y forma sulfuros de hidrógenos, al ocurrir la degradación de cualquiera de los 3 azúcares presentes, se forman ácidos que hacen virar el indicador rojo de fenol a un color amarillo (inicialmente rojizo) en caso de no ocurrir la degradación de los azúcares, se

producirán una alcalinización virando el indicador a un color rojo acentuado que se caracteriza y se observa en el tubo, a continuación se detalla el procedimiento (Koneman *et al.*, 2008).

**Procedimiento:** Con un aza de Koll con punta, se seleccionó una colonia del medio agar McConkey, se sembró por punción y estría, el medio se fraccionó en picos de flauta y se llevó a incubar a 37 °C durante 18 - 24 horas.

### **Lisina hierro agar (LIA)**

**Fundamento:** Este medio de diferenciación permite evidenciar la descarboxilación del aminoácido lisina, la desanimación del mismo y la producción del ácido sulfhídrico cuando se identifican a las enterobacterias. Las reacciones anteriores se ponen de manifiesto mediante el viraje del indicador purpura de bromocresol; y la formación de sulfuro de hidrógeno a partir del tiosulfato sódico, se manifiesta por la formación del sulfuro ferroso (Rubio, 1990).

**Procedimiento:** Se Inoculó una siembra mixta con doble punción hasta el fondo en distintos lugares, seguidamente en la superficie una siembra por estría, todo este procedimiento a partir de una colonia del cultivo para luego llevarlo a incubar a 24 horas por 37 °C..

### **Agar Citrato de Simmons (CS).**

#### **Fundamento**

Este agar permite utilizar el citrato como fuente de carbono, la degradación del citrato contenido en el medio hace que forme ácidos intermedios los que se volatilizan quedando el catión sodio en el medio, así como los radicales oxidrilos, que alcalinizan el medio, el indicador es el azul de bromo timol que vira de verde a azul, *Enterobacter* y *Citrobacter* utilizan este medio como única fuente de carbono. (Mendo, 1990).

**Procedimiento.** El color original del medio es verde, se tomó una colonia bien aislada de la superficie de un medio primario y se sembró en forma de estría en el pico de flauta (agar inclinado) luego se incubó por 24 hrs a 37°C.

### **Sulfhídrico – indol – movilidad (SIM)**

**Fundamento:** El triptófano es un aminoácido, constituyente de muchas peptonas y particularmente de la tripteína, que puede ser oxidado por algunas bacterias para formar indol, en el proceso interviene un conjunto de enzimas llamadas triptofanasa; el indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Erlich, para originar un compuesto de color rojo. Las cepas móviles pueden apreciarse en este medio, por la turbidez que producen alrededor de la punción de siembra, mientras que aquellas cepas productoras de ácido sulfhídrico se distinguen por la formación de un precipitado negro de sulfuro de hierro a partir del tiosulfato siempre que el medio se mantenga a un pH mayor a 7.2. (Forbes *et al.*, 2009).

**Procedimiento:** Se inoculó al medio, realizando siembra por picadura hasta la mitad del medio a partir del cultivo del microorganismo en estudio. Luego se llevó a incubar por 24 horas a 37 °C. Al finalizar la incubación de este periodo se añadió 3 a 5 gotas del reactivo de Kovacs.

**Indol:** El desarrollo de un color rojo-fucsia en la interfase del reactivo y del medio segundos después añadir el reactivo de Kovacs, lo cual indica la presencia de indol y por lo tanto una prueba positiva.

#### **Análisis de datos**

Se calculó la prevalencia, reemplazando en la siguiente ecuación matemática

$$\text{Prevalencia del uropatógeno} = \frac{\text{Casos positivos del uropatógeno}}{\text{Total de muestras evaluadas}} * 100$$

## **2.-Determinación de la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) de *Escherichia coli* en pacientes con infección del tracto urinario según grupo etario que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”- Puno.**

### **a. Tamizaje de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido.**

Seguida de la identificación bacteriana, la interpretación del antibiograma, se procedió a la selección de cepas sospechas de posibles productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Como criterios para la clasificación de cepas posibles productoras de BLEE, se utilizó los puntos de corte determinados

por el CLSI. La tabla 7 que se presenta, señala los diámetros para Ceftazidima, Cefotaxima, Ceftriaxona y Aztreonam que serán utilizados como test de tamizaje y que permiten sospechar la presencia de las BLEE: Si la cepa estudiada presenta halos de inhibición, para al menos uno de estos antibióticos, iguales o inferiores a los diámetros referidos en (Anexos B) deberá realizarse un test confirmatorio de la presencia de “betalactamasas de espectro extendido”. Las cepas que cumplirán con los criterios de la CLSI serán aisladas para su posterior confirmación fenotípica de la producción de BLEE. (INS, 2002).

Principio de la confirmación fenotípica de cepas productoras de BLEE por prueba de difusión con discos. (Kirby - Bauer)

**b. Test confirmatorio de la presencia de “betalactamasas de espectro extendido” (según el Comité de Antibiograma de la Sociedad Francesa de Microbiología):**

El test requiere el uso de discos habituales de Amoxicilina/Ácido Clavulánico (20/10 mg), los discos de ceftazidima, aztreonam, cefotaxima y ceftriaxona se disponen a 30 mm del disco de Amoxicilina/Ácido Clavulánico (distancia de centro a centro de los discos). Si una imagen de sinergia aparece entre el disco Amoxicilina/Ácido Clavulánico y los discos de ceftazidima, aztreonam, cefotaxima, ceftriaxona, se considera el test como positivo (INS, 2002).

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

**Procedimiento:** El medio de elección es el agar Mueller Hinton, que presenta buena reproductibilidad de los resultados ya carece de inhibidores y es adecuado para la mayoría de las bacterias patógenas. (Torrico y Trigoso, 2003).

### **Preparación del inóculo**

Se utilizó el método de inoculación directa para microorganismos de desarrollo rápido, en cultivo de 24 horas de incubación en agar Mac Conkey, se seleccionó 2 a 5 colonias aisladas de igual morfología, a partir del medio de cultivo. Se tocó solo la parte superior de cada colonia con el asa para transferirlo a un tubo con agua peptonada para así poderse suspender los microorganismos. Se estandarizó el inóculo con el patrón de turbidez 0,5 Mac Farland previamente preparados en tubos. Esta suspensión estuvo contenida por una concentración bacteriana de  $1,5$  a  $2 \times 10^8$  UFC/ml aproximadamente. (Torrigo y Trigoso, 2003).

### **Inoculación de las placas**

Antes de realizar la siembra en agar Mueller Hinton, homogenizamos el inóculo, introduciendo un hisopo estéril dentro de la suspensión bacteriana asíéndolo rotar el hisopo presionando contra las paredes del tubo para eliminar el excedente y se distribuye el inóculo uniformemente sobre la superficie del agar, luego se sembró suavemente sobre la superficie del medio. La siembra se realizó en 3 direcciones, haciéndolo girar la placa Petri en cada siembra en un ángulo de  $65^\circ$ , ya que esto permitirá una distribución homogénea del inóculo en el agar.

Seguidamente pasaremos a la aplicación de los discos de susceptibilidad antimicrobiana para confirmación fenotípica de BLEE.

Antes de utilizar los discos antimicrobianos como: Ceftazidima, Aztreonam, Cefotaxima y Ceftriaxona y Amoxicilina/Ácido Clavulánico estos fueron sacados del refrigerador dos horas antes para que así adquieran la temperatura ambiente. Se colocó los discos sobre el agar, presionando ligeramente sobre el disco para que no se despegue; el disco no debe ser removido, pues de inmediatamente difunde el antimicrobiano sobre el agar, después de colocar los discos se incubaron de forma invertida en la estufa a  $35^\circ\text{C}$  por 24 horas, para luego proceder con la medición de los halos de inhibición, esto se realizó con una regla sosteniendo la placa Petri de manera invertida. (Torrigo y Trigoso, 2003).

### **Interpretación de los resultados**

Para la interpretación de los halos de inhibición encontrados se utilizó las tablas del CLSI Enero 2009 M100- S 19 Vol. 29 N°3. Y de la misma manera se observó la sinergia si encaso fuera BLEE positivo.

**Análisis estadístico:****Prueba de Ji-cuadrado**

Para determinar la frecuencia de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido según grupo etario se utilizará la prueba de Ji cuadrado:

$$\chi_c^2 = \sum_{i=1}^f \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Dónde:

$\chi_c^2$  : Ji-cuadrado calculado.

$O_{ij}$  : Frecuencias observadas de la i-ésima fila y j-ésima columna.

$E_{ij}$  : Frecuencias esperadas de la i-ésima fila y j-ésima columna, aquella frecuencia que se observaría si ambas variables fuesen independientes.

f y c : filas y columnas respectivamente.

**3.- Determinación de la sensibilidad de *Escherichia coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) a otros antimicrobianos: fosfomicina, ciprofloxacino, amikacina, imipenem, gentamicina.**

**Antibiograma****Técnica: prueba de difusión Kirby – Bauer**

**Fundamento:** La prueba de difusión con disco, se basa en el uso de una cantidad constante del antimicrobiano, que está impregnado en un reservorio del 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.

**Procedimiento:** Se utilizó los microorganismos de cepa pura del medio TSI de cultivos con más de 24 horas de incubación, se seleccionó de 3 a 5 colonias aisladas y de la misma morfología para luego transferirla a un frasco de suero fisiológico estéril con el patrón de turbidez 0,5 Mc Farland previamente estandarizado.



### **Inoculación de las placas de agar Muller Hinton**

Antes de realizar la siembra en el agar Muller Hinton se homogenizó el inóculo, luego se introdujo con un hisopo estéril en la suspensión, se hizo 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 3 direcciones haciendo girar la placa petri esto permite una distribución homogénea del inóculo.

### **Aplicación de los discos**

Se colocó los discos sobre la superficie del agar, presionando ligeramente. Una vez colocado el disco no debe ser removido, pues inmediatamente difunde el antimicrobiano sobre el agar. No deben colocarse más de 12 discos en una placa de 150 mm, ni más de 6 en una placa de 100 mm de diámetro interno, para evitar la superposición de las zonas de inhibición. El disco no debe ser removido una vez que tomó contacto con la superficie del agar debido a que algunos antibióticos se difunden rápidamente.

**Discos a utilizar:** fosfomicina, ciprofloxacino, amikacina, imipenem, gentamicina.

### **Interpretación de los resultados**

Para la interpretación de los halos de inhibición encontrados se utilizó las tablas del CLSI, cada grupo de microorganismos tiene una tabla específica que son editadas y actualizadas anualmente por la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010). La sensibilidad de la cepa bacteriana está reportada como sensible (S), intermedio (I), y resistente (R).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. *Escherichia coli* como causa de infecciones del tracto urinario (ITU) en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno.

Las muestras fueron procesadas en el laboratorio clínico del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” de la ciudad de Puno, la investigación se realizó en los meses de diciembre a febrero, se obtuvieron 44 muestras de orina, que fueron procesadas de pacientes que asisten al consultorio de urología, en donde 31 muestras resultaron positivas para el estudio.

**Tabla 2.** Prevalencia general de infecciones del tracto urinario (ITU) causada por *Escherichia coli*, en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017.

Casos	Prevalencia	
	N	%
<i>Escherichia coli</i>	31	70.45
Otros microorganismos	13	29.55
<b>Total</b>	<b>44</b>	<b>100.00</b>

De un total de 44 muestras de orina positivas para infección urinaria, el 70.45% (31 muestras) fueron causadas por *E. coli*; mientras que el 29.55% (13 muestras) tuvieron como agente causal otra especie patógena diferente.

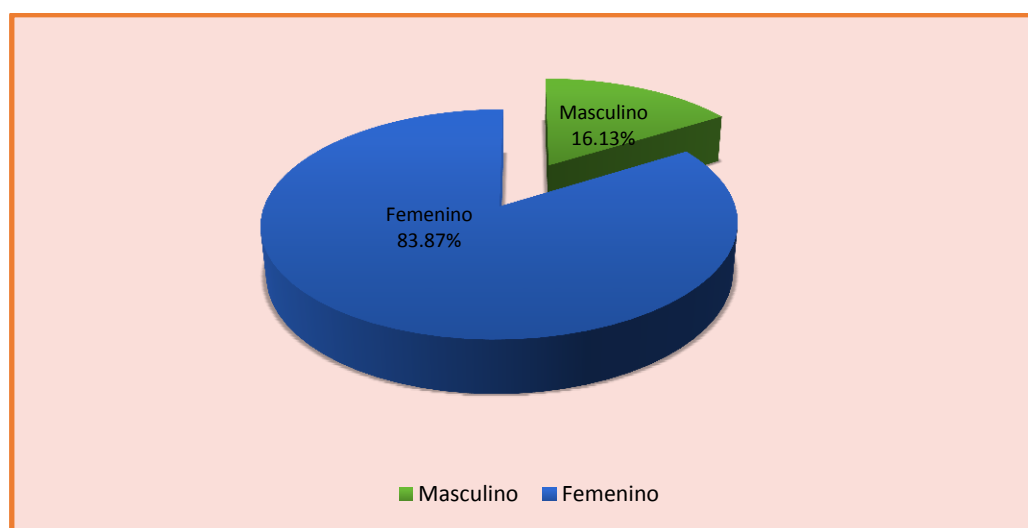
Estos resultados muestran similitud con lo reportado por Álvaro (2002), donde se aisló a *Escherichia coli* en un 68% como causa de ITU; así mismo Carranza *et al.* (2003) en pacientes ambulatorios aisló *Escherichia coli* en un 67.3%; en tanto González *et al.*, (2008) en estudios realizados en el Hospital General “Cayetano Heredia” – Lima señala que la bacteria más frecuente aislada fue *Escherichia coli* con un 76% y en menor porcentaje *Klebsiella* sp. 5% y *Citrobacter* sp. (3%); Así mismo Govea (2007) reportó que *Escherichia coli* es la bacteria causante de ITU con un 71.05%; tomando en cuenta estos reportes concuerdan con los resultados del presente trabajo de investigación ya que se encuentran dentro de un rango de 60 a 80 % de aislamiento de *Escherichia coli* como causante de ITU.

Estos hallazgos explican que la presencia de *Escherichia coli* causante de ITU en pacientes ambulatorios, se debe a que estas cepas pueden colonizar el tracto urinario ya

sea por cuestiones anatómicas en la mujer en la que logran alcanzar el meato uretral debido a que estas cepas provienen de las microbiota intestinal y colonizan las vías urinarias causando una infección, solo un grupo de cepas produce infección debido a los factores de virulencia que presentan estos microorganismos, dentro de estos factores tenemos las fimbrias que tienen la capacidad de adherirse firmemente a las células del uroepitelio para luego así colonizar e infectar el tracto urinario (Martinez *et al.*, 1997).

**Tabla 3.** Prevalencia de infecciones del tracto urinario (ITU) según sexo causada por *Escherichia coli*, en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017.

Sexo	Prevalencia	
	N	%
Masculino	5	16.13
Femenino	26	83.87
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>100.00</b>



**Figuras 10.** Prevalencia de infecciones del tracto urinario (ITU) según sexo causada por *Escherichia coli*, en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017.

En la Tabla 3, figura 10, nos indica que de 31 muestras positivas a *Escherichia coli*, el 16.13% (5 muestras) correspondían a muestras de pacientes de sexo masculino, mientras que el 83.87% (26 muestras) provenían del sexo femenino. De los resultados se establece una mayor prevalencia de pacientes del sexo femenino con infección urinaria cuyo agente causal fue *Escherichia coli*.

Estos resultados coinciden con lo encontrado por Álvaro (2002), que recopiló 63 urocultivos positivos de las cuales el 84% provenían del sexo femenino; además en

otros países como Colombia se encontró que cerca del 6.3% del motivo de consulta en una población es por infección de vías urinarias de los cuales el 84.4% correspondieron a mujeres entre los 15 y 44 años de edad, lo que la convierte en una causa considerable de morbilidad en mujeres, con repercusiones importantes en la calidad de vida si no es tratada correctamente (Reyes & Baque, 2012), resultados que coinciden con este estudio.

La presencia de estos microorganismos causantes de ITU en ambos sexos es debido a las características anatómicas del tracto urogenital del hombre y de la mujer, la población femenina es la que sufre con mayor frecuencia estas infecciones, por razones anatómicas y/o trastornos hormonales, en ambos casos la vejiga suele ser esteril pero las células epiteliales que tapizan la uretra suelen ser colonizadas por bacilos y cocos gram negativos aerobios facultativos. Cambios en el cuerpo como modificación del pH, permiten que estos microorganismos se multipliquen y lleguen a hacer patógenos (Broock *et al*, 2006).

Por lo expuesto, se acepta la hipótesis planteada debido a que se identifico *Escherichia coli* en un 70.45 %, esta bacteria es causantes de las infecciones del tracto urinario en pacientes que asisten al consultorio de urología del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” Puno a diferencia de las otras especies que son poco frecuentes, debido a los factores de patogenicidad que presentan, las fimbrias que poseen se unen a los receptores periuretrales y así colonizarlas y causar la infección.

#### **4.2. Determinación de la producción de betalactamasas de espectro extendido de *Escherichia coli* en pacientes con infección del tracto urinario según grupo etario que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” - Puno.**

**Tabla 4.** Producción de betalactamasas de espectro extendido de *Escherichia coli* en pacientes con infección del tracto urinario que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017

Resultados	N	%
<i>Escherichia coli</i> BLEE negativas	21	67.74
<i>Escherichia coli</i> BLEE positivas	10	32.26
Total <i>Escherichia coli</i>	31	100.00

De un total de 31 muestras positivas, se determinó que el 67.74% (21 muestras) resultaron ser *Escherichia coli* no productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), mientras que un 32.26 % (10 muestras) fueron *Escherichia coli* productoras de BLEE.

Se aplicó la prueba estadística de Ji cuadrado la cual indico que no existe diferencia estadística significativa ( $p=0.147 > \alpha=0.05$ ) (Tabla 4).

Los porcentajes obtenidos son similares a lo reportado por Chambi (2009), donde aisló el 28 % de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido; además Marcos *et al.* (2008), en su estudio donde se aislaron *Escherichia coli* uropatogena productoras de betalactamasas de espectro extendido en un 17.6% de los pacientes estudiados; así mismo Peroso & Castellano (2009), confirmaron la producción de BLEEs en un 24.49% cepas de todas las enterobacterias, pero solo la producción de BLEEs para *Escherichia coli* fue un 18.34%; así también en otros países como Colombia Martinez *et al.*, (2005) muestra un porcentaje de cepas BLEE positivas de *E. coli* de 20.5%.

A diferencia de datos obtenidos por Morales, *et al.* (2005), que obtuvo 2,9% del total de *Escherichia coli* aisladas fueron confirmadas como productoras de BLEE; como también Navarro *et al.* (2005), en donde el resultado obtenido fue que la prevalencia de cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE fue de 5%; así también Enríquez y Peralta (2010), menciona que los resultados mostraron que de 91 muestras (56%) de *Escherichia coli* se recuperó 7 muestras (8%) de cepas productoras de BLEE.

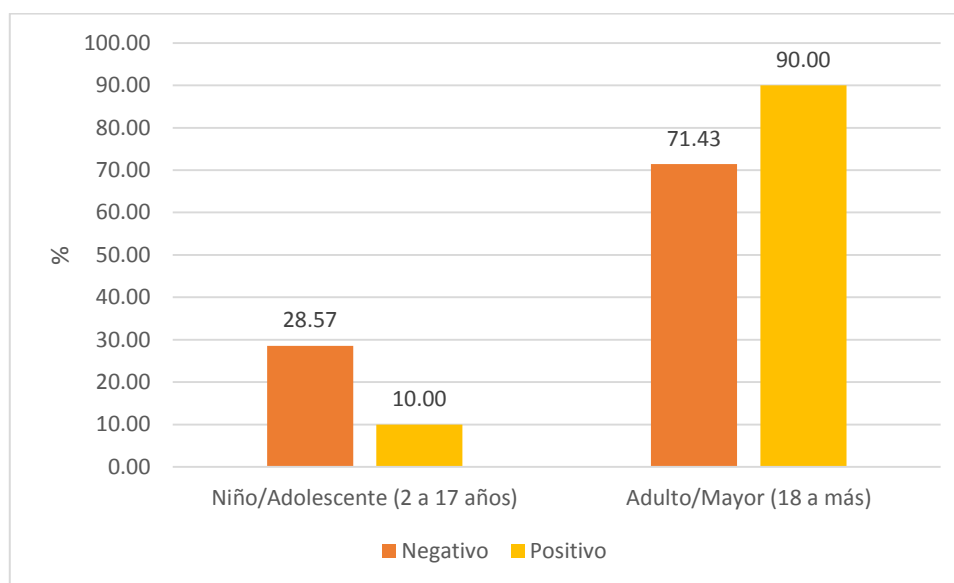
Como se puede observar *Escherichia coli* productoras de BLEE ha ido aumentando a medida que ha avanzado el tiempo y varía en cada lugar, esto es debido a los diferentes tipos de mecanismos de resistencia de cada uno de las bacterias ya sea cromosómicas como plasmidicas es decir que las Betalactamasas de Espectro Extendido podrían llegar a ser un problema clínico, epidemiológico y económico, que probablemente se deba principalmente al uso indiscriminado de cefalosporinas de tercera generación que provocarían fracasos terapéuticos, afectando así la calidad de vida del paciente.

**Tabla 5.** Producción de betalactamasas de espectro extendido de *Escherichia coli* en pacientes con infección del tracto urinario según grupo etario que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017

*Escherichia coli* PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

BLEE	BLEE (negativos)		BLEE (Positivo)		Total	
	N	%	N	%	N	%
Niño/Adolescente (2 a 17 años)	6	28.57	1	10.00	7	22.58
Adulto/Adulto mayor (18 a más)	15	71.43	9	90.00	24	77.42
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>100.00</b>	<b>10</b>	<b>100.00</b>	<b>31</b>	<b>100.00</b>

$$\chi^2_c = 64 < \chi^2_t = 3.841 \text{ (p=0.001)}$$



**Figuras 11.** Producción de betalactamasas de espectro extendido de *Escherichia coli* con el en pacientes con infección del tracto urinario según la edad que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017.

Se puede observar que los resultados de los BLEE positivos según edad son los siguientes; el 10% de BLEE positivas pertenecen a niños y adolescentes y para adultos/adultos mayores fue el 90%. La prueba estadística de Ji cuadrado indica que existe diferencia estadística significativa (p=0.001), de lo cual se interpreta que la edad del paciente varía con respecto a las *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido ya que se dio más en adultos mayores que en niños, lo que nos indica la Tabla 5, figura 11.

Estos resultados obtenidos muestran similitud con lo reportado por Enríquez & Peralta (2010) cuyos resultados mostraron que cepas productoras de BLEE 2 (29%) fueron aisladas de niños, 2 (29%) de jóvenes, 1 (14%) de un lactante, 1 (14%) de un adulto y 1 (14%) de un adulto mayor; además Padilla (2011) menciona que respecto a la edad, personas de 61 años y más fueron las que presentaron mayor prevalencia de infección por estas cepas; así también Churata (2012), al estudiar los “Factores clínicos epidemiológicos asociados a infecciones por Enterobacterias BLEE,” menciona que las principales características clínicas y epidemiológicas de los 8 pacientes con infección por enterobacterias BLEE son de edad entre 61 y 80 años (48.7%). Así mismo Díaz *et al.* (2015) menciona que el grupo etario más frecuente está comprendido entre 30 y 59 años, sin embargo no mostro significancia estadística. En otras investigaciones no existen datos que indiquen el número de casos de BLEE positivos para *Escherichia coli* por grupos de edad.

Por lo tanto la edad asocia con las *Escherichia coli* productoras de BLEE siendo el grupo etario de adultos y principalmente en adultos mayores en donde existe mayores casos de BLEE. La edad mayor de 60 años son uno de los factores predisponentes de los pacientes asociada a enterobacterias productores de BLEE, debido a los estados de inmunosupresión como la edad adulta mayor (Fennell *et al.*, 2012)

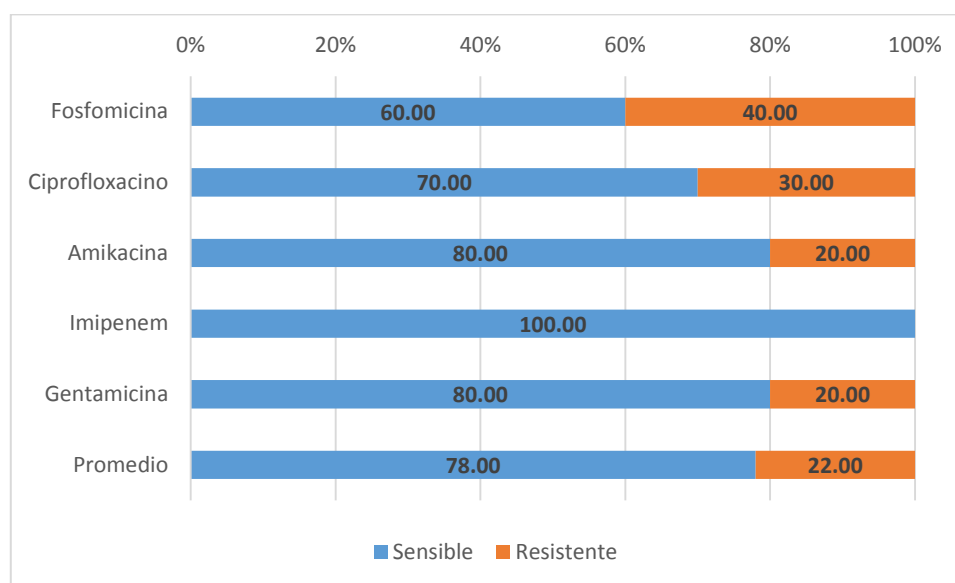
#### **4.3. Sensibilidad de *Escherichia coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido a otros antimicrobianos: fosfomicina, ciprofloxacino, amikacina, imipenem, gentamicina.**

Se realizó un análisis de sensibilidad antibiótica de las muestras de pacientes de consultorio externo servicio urología del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón con urocultivo positivo a *Escherichia coli*, mediante el método de Kirby-Bauer, se utilizó para este análisis los siguientes antibióticos: fosfomicina, ciprofloxacino, amikacina, imipenem, gentamicina.

**Tabla 6.** Sensibilidad de *Escherichia coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido frente a antibióticos

Sensibilidad	Sensible		Resistente	
	N	%	N	%
Fosfomicina	6	60.00	4	40.00
Ciprofloxacino	7	70.00	3	30.00
Amikacina	8	80.00	2	20.00
Imipenem	10	100.00	0	0.00
Gentamicina	8	80.00	2	20.00
<b>Promedio</b>	<b>8</b>	<b>78.00</b>	<b>2</b>	<b>22.00</b>

$$\chi_c^2 = 11.28 > \chi_i^2 = 9.48 \text{ (p=0.024)}$$



**Figuras 12.** Sensibilidad de *Escherichia coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido frente a antibióticos

Se puede observar la evaluación de susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* productoras de BLEE, donde se demuestra que para Fosfomicina el 60% mostró sensibilidad, con Ciprofloxacino un 70%, para Amikacina el 80%, Imipenem el 100% y con Gentamicina el 80% mostró sensibilidad, el promedio de los antibioticos fue de 78% de sensibilidad. De los resultados se evidencia que Imipenem fue el antibiotico



más efectivo, mientras que la Fosfomicina produjo la mayor resistencia de todos los antibióticos utilizados, en la tabla 6 y figura 12.

La prueba estadística de Ji cuadrado indica que existe diferencia estadística significativa ( $p = 0.024$ ), de lo cual se interpreta que el antibiótico Imipenem presentó un mejor efecto sobre el agente infeccioso con BLEE, puesto que la sensibilidad fue superior a la del promedio de todos los antibióticos utilizados.

La sensibilidad observada en *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido a fosfomicina es 60%, similar al resultado de León (2014) menciona que presentaron bajo nivel de resistencia a la fosfomicina y a los aminoglucósidos, Sanchez *et al.*, (2003) reporta una sensibilidad para la fosfomicina en un 98%, lo contrario que expresa Garau *et al.*, (2001) en España que la resistencia a fosfomicina fueron muy bajas dejando de usarse empíricamente.

Así también para ciprofloxacino obtuvimos una sensibilidad de 70%, similar a lo reportado por Enriquez & Peralta (2010) indicándonos que las cepas de *Escherichia coli* aisladas fueron sensibles Ciprofloxacino (83%); así mismo González *et al.* (2008) menciona que *Escherichia coli* fue sensible a ciprofloxacino en un 44.5%, lo contrario que reporta Astete *et al.* (2004) quien estableció que *Escherichia coli* presentó un 69.8% de resistencia a ciprofloxacino ambos estudios fueron trabajados en Lima y con microorganismos gram negativos que causan infecciones urinarias de igual manera en otros países como Nicaragua López (2014) reporta que *Escherichia coli* mostró resistencia ciprofloxacino en un 33.9 %.

*Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido es sensible en un 80% tanto para amikacina como gentamicina en esta investigación, similares resultados fueron obtenidos por Enriquez & Peralta (2010) indicándonos que las cepas de *Escherichia coli* aisladas fueron sensibles a Gentamicina (91%), de misma manera para amikacina González *et al.* (2008) reporta una sensibilidad de 93.4%, siendo datos con los encontrados en el presente estudio. Lo contrario que reporta Astete *et al.* (2004) en donde menciona que *Escherichia coli* presentó una resistencia a gentamicina en un 61.4% al igual que Diaz *et al.* (2015) quien reportó una resistencia de gentamicina al (88%) similar al estudio de Navarro *et al.* (2005), que indica en su estudio que los aislamientos que encontró mostraron resistencia frente a antibióticos no betalactámicos, especialmente a amikacina; en cambio Morales, *et al.* (2005) en su investigación

menciona que todas las cepas productoras de BLEE fueron multirresistentes y la mayoría presentó co-resistencia a amikacina, gentamicina y ciprofloxacina.

Para imipenem que obtuvimos un porcentaje de sensibilidad del 100% similares a los reportados por Astete *et al.* (2004) que presentó sensibilidad para imipenem y meropenem al 100% de la misma manera Padilla (2011). En la región de Puno se obtuvo también una sensibilidad de 100% para imipenem reportados por Chambi (2009) y León (2014), todos estos autores mencionados concuerdan con nuestros resultados.

Los carbapenem son potentes inductores a betalactamasas tipo AmpC ya que son filogenéticamente distintas de las BLEE y su hiperproducción la hace resistente a los carbapenémicos Sorlozano (2004), la sensibilidad de los uropatógenos aislados frente al antimicrobiano imipenem, se debe a que en su característica molecular N-formidoiltienamicina es hidroxietilo-trans, pues los otros antimicrobianos betalactámicos son acilamino-cis Rivero (1998); Sin embargo, en el nuestro estudio, se ha comprobado que las cepas uropatógenas BLEE presentaron una sensibilidad total a imipenem propia de las enzimas BLEE.

La actividad bactericida de la fosfomicina se debe a la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana, por inhibición del enzima enol-piruviltransferasa. La fosfomicina es activa frente a microorganismos Gram positivos y Gram negativos, incluidas cepas productoras de penicilasas y los patógenos más comunes en las vías urinarias, como *Escherichia coli*. La resistencia bacteriana a fosfomicina puede ser microsomal y más raramente mediada por plásmidos. La frecuencia de la aparición de resistencias a fosfomicina es baja, y parece que existe poca resistencia cruzada entre fosfomicina y otros agentes antibacterianos (Lozano, 2008).

En el estudio se ha comprobado que las cepas BLEE también presentan resistencia a algunos antimicrobianos como es la fosfomicina, pero en nuestra investigación imipenem presenta mayor sensibilidad que a otros antimicrobianos por lo tanto acepto la hipótesis planteada, ya que cada antibiótico tiene diferente tipo porcentaje de sensibilidad para la misma bacteria *Escherichia coli*, básicamente esto dependería del uso de antibióticos en cada lugar y que muestran una sensibilidad *in vitro* pero presentarán una resistencia *in vivo*.

## V. CONCLUSIONES

1. La prevalencia general de infecciones urinarias causadas por *Escherichia coli* fue de 70.45%, según sexo masculino de 16.13% y femenino 83.87%, en pacientes que acuden al Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” – Puno, 2017.
2. La producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) de *Escherichia coli* fue de 32.26% (10 muestras); en niños y adolescentes fue de 10% y adultos y adultos mayores 90%, existiendo variedad y una asociación según grupo etario ( $p = 0.001$ ).
3. La evaluación de sensibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido, fue para Fosfomicina 60% de sensibilidad, Ciprofloxacino 70%, Amikacina 80%, Imipenem el 100% y con Gentamicina el 80% mostró sensibilidad, el promedio de los antibióticos fue de 78% de sensibilidad; existiendo diferencia estadística significativa ( $p = 0.024$ ), señalando a Imipenem como el antibiótico más efectivo.

## VI. RECOMENDACIONES

- 1.- Se recomienda realizar el mismo tipo de estudio con mayor número de pacientes para un resultado más confiable incluyendo factores de riesgo como: edad, sexo, etc, asociados a la presencia de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido en infección urinarias de origen comunitario o de origen rural.
- 2.- Realizar estudios de expresión genotípica de las bacterias productoras de BLEE para complementar este estudio; ya que existen diferentes tipos de BLEE y diferentes mecanismos de resistencia.
- 3.- Realizar estudios de sensibilidad con otros tipos de antimicrobianos que se usan para las infecciones del tracto urinario, no solo con *Escherichia coli* sino también con *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en el Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón”.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ambler, R. P. (1980). "The structure of beta-lactamases." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 289(1036): 321-31.
- Ambuila, E., Ramírez, L., Escobar, A., Chávez, M. 2015. Prevalencia de uropatógenos gramnegativos aislados de pacientes adultos en la ciudad de Cali, Colombia. *Ciencia & Salud; Hospital "San Juan de Dios"*. *Ciencia & Salud*. 2015; 4(13); 11-1
- Andreu A. 2005. Patogenia de las infecciones del tracto urinario. *Enferm Infecc Microbiol Clin*: 23: 15-21 pp.
- Álvaro, O. 2002. Perfil microbiológico y resistencia bacteriana de infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad en pacientes ambulatorios del Hospital Nacional "Daniel Alcidez Carrión" (tesis de especialidad). Callao-Lima, Perú: Universidad Mayor de San Marcos.
- Arce Z., Llontop J., Flores R., Fernández D. (2013). Detección Del Gen CTX-M En Cepas De *Escherichia coli* Productoras De B-Lactamasas De Espectro Extendido Procedentes Del Hospital Regional De Lambayeque.
- Avellaneda Mariscal, Jessica M. (2010). Resistencia Bacteriana Generalidades. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/generalidades.pdf>.
- Astete, L., Flores, F., Buckley. D., Villareal M. 2004. Sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infecciones urinarias en pacientes ambulatorios en el "Hospital Arzobispo Loayza". *Revista Sociedad Peruana de Medicina Interna*.
- Barcelona L., Marin M., Stamboulian D. (2008). Betalactamicos con inhibidores de betalactamasas amoxicilina-sulbactam. *Terapeutica clínica; Medicina*. Buenos Aires; Volumen 68.
- Blanc V. 2007. Caracterización de cepas y plasmidos de Enterobacteriaceae portadores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona, Departamento de Genética y de Microbiología, 214 pp.
- Bianchini Hebe. (2008). Curso de microbiología clínica, Universidad Nacional del Litoral, Publicaciones latinoamericanas, Buenos Aires, Capítulos: 1, 2., pág: 15, 32-33, 57-62.
- Brock A. 2003 "biología de los Microorganismos". 10ma edición. Editorial Peñalara S.A, España.pp 101.

- Broock G., Butel, J., Morse S. (2005) Microbiología medica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 18 a Editorial El Manual Moderno, Madrid-España. 785p.
- Canton, R., A. Novais., (2008). "Prevalence and spread of extended spectrum beta lactamase producing Enterobacteriaceae in Europe." Clin. Microbiol. Infect. 14 Suppl 1: 144-53.
- Carmona, J. & Alonso, F. 2008. Bacteriuria asintomática en la consulta de atención primaria, Sistema Nacional de Salud. Vol. 32, N.2.
- Casellas, JM. 2008. Etiología – etiopatogenia de las infecciones urinarias. Laboratorio CIBIC. Sanatorio Parque y Sanatorio de Niños. Rosario, Argentina. 155 p.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013. Performance Standards for Antimicrobial Suceptibility Testing. 23(100).
- Comité Nacional para la Normatización de Laboratorios Clínicos (NCCLS). 2010 manual de actualización en resistencia bacteriana y normas CLSI m100 – 20.
- Coronel C. (2003) Infecciones urinarias recurrentes: Algunos factores de riesgo. Rev. Mex Pediatr; 70 (2); 62-67.
- Crespo, M. 2002. La lectura interpretativa del antibiograma: una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. Colombia Medical Vol. 33 N.4. 179-193.
- Castro N, Damaris E, Moreno M, Alarcón L. (2000). Caracterización molecular de  $\beta$  lactamasas de espectro extendido en aislamientos clínicos de *Escherichia coli*. Enf. Inf. Microbiol. 28(3):114-120
- Cueto, M., J. R. Hernandez (2006). "Activity of fosfomycin against extended-spectrum betalactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*." Microbiology Clinical 24(10): 613-6.
- Chambi, Q.S. (2009). Resistencia de uropatógenos gramnegativos productores de betalactamasas de espectro extendido en pacientes que asisten al Hospital EsSalud Juliaca. Universidad Nacional del Altiplano. Español. 80 Pag.
- Churata, Y.D. (2012), "Factores clínicos epidemiológicos asociados a infecciones por Enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en el hospital "Daniel Alcides Carrión" de EsSalud – Tacna. Universidad Nacional del Altiplano 81 p.

- Dalet, F. (1998). Panorámica De Las Infecciones Urinarias De Vías No Complicadas. Barcelona: Mayo.
- Diaz, J. (2015), en el estudio “Prevalencia de *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y otras resistencias en urocultivos en el Hospital Regional de Ica”. Revista Médica panacea. Vol. 5, Núm. 1. Pag. 70.
- Echevarría, J., Sarmiento, E., Aguilar, F., y Osores, F. 2006. Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. Acta médica Peruana Vol. 23 N°.1 Lima ISSN 1728-5917.
- Enríquez Méndez, J. & Peralta Ortiz, 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.
- Fennell J., Vellinga A., Hanahoe B., Morris D., Boyle F., Higgins F., Lyons M., Keady D., Cormican M. 2012. Increasing prevalence of ESBL production among Irish clinical Enterobacteriaceae from 2004 to 2008: an observational study. Irlanda. BMC Infectious Diseases. vol.12, n°116, p 1-8.
- Forbes, B., Bailey, W., Scott, E., Sahm, D., Weissfeld, A. And Trevino, E. (2009). Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires: Panamericana.
- Garau, J. (2001). “Resistencia de *Escherichia coli* a la amoxicilina y el sulfametoxazol-trimetoprim”. Clinica Microbiana Infectologia. 198-202.
- Gonzales, T., Romero, GT., & Lino, K., 2008. Infecciones del tracto urinario en el Hospital General. Perú Cayetano Heredia, enero – junio 179 p.
- Gobernado, M. (2005). "Extended-spectrum beta-lactamases on the rise." Rev. Esp. Quimioter. 18(2): 115p.
- Grunebey, A. Wilson.1995.Manuel clínico de infecciones urinarias. 5ta.Edicion. Barcelona, España. Editorial Iatros 46p.
- Jawetz E. Melnick., Adelberg. (2009). Manual de microbiología Medica. Edición 10. El manual moderno S.A. de C.V. México. 828 p.
- Keller L., Calderón C., (2013). Prevalencia De Betalactamasa De Espectro Extendido (BLEE) En Enterobacterias Provenientes De Urocultivos De Paciente Ambulatorios.

- Koneman. Winn, H., Allen, Janda, Procop. 2008. Diagnostico Microbiológico texto y atlas a color. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 6ta Edición. 696 p.
- León, LJ. (2014). Multirresistencia Antimicrobiana De Cepas De *Escherichia coli* Productoras De Betalactamasas De Espectro Extendido (BLEE) Aislados En Urocultivo Del Hospital Regional “MNB” Puno. Tesis Para Optar El Título En Licenciado En Biología, Universidad Nacional Del Altiplano Puno Perú.
- Lezameta L, Gonzales E, Tamariz J. (2011) Comparación de Cuatro Método Fenotípicos Para la Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido.
- López Acuña, Williams y Guevara Duncan, José (2010) Infección por *Escherichia coli* enterohemorrágica.
- López, M. 2014. Patrón de resistencia bacteriana de los agentes etiológicos causantes de infecciones de vías urinarias altas en pacientes del servicio de medicina interna de la ciudad de Nicaragua del Heodra, Febrero 2012-Enero 2014.
- Lozano A, (2008). Fosfomicina. Informe para la Comisión de Farmacia y Terapéutica del Hospital de Cabueñes. Servicio de Farmacia.
- Mandell G, Bennett J, Dolin R. (2009). Principles and Practices of Infectious Diseases 6th Edition. Elsevier Churchill Livingstone,
- Marrero C.L, Montesdeoca A., Alcoba J. Y Garcia V. (2005) Resistencia Antibiótica De Las Bacterias causantes de Infección Urinaria en la Población Pediátrica De Tenerife. BSCP Can. Ped. Volumen 29, Setiembre – Diciembre, Pág. 49- 53
- Marin M., Gudiol F. 2003 Antibióticos betalactámicos. España. Enferm. Infecc. Microbiol Clin. Vol. 21, n° 1, p. 42-55.
- Marimon, A. 2014 *Escherichia coli*, la bacteria peligrosa. Madrid. Pag 20.
- Marcos P., Del valle L., Ruiz J., Gavilán R., Tello C., Vargas M., Alvarado D., Ramirez P. Cocha J., Garcia de la Guarda R. (2008). Epidemiologia molecular de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido aisladas de casos de infecciones urinarias adquiridas en la comunidad de Lima. Resúmenes, sección IV: Biotecnología.
- Martinez P.J., Espinal P.A., Mattar S. (2005). Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productores de  $\beta$ - lactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jeronimo de Monteneira. Colombia. Med UNAB;8:15-22.



- Martinez C. Cambronero J. y Senovilla J. 1997. Fisiopatología de la infección urinaria. Clínicas urológicas de la Complutense. Servicio de publicaciones. UCM, Madrid. España. 64p.
- Mattar S. y Martinez P. (2007) Emergencia de la resistencia antibiótica debida a las betalactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico epidemiológico.
- Merck, (1994). Manual de Medios de Cultivo, Darmstadt, Alemania. Pag 55-65.
- Mendo, R. 1990. Medios de cultivo en microbiología, Manual de Laboratorio. Editorial Triceln S.A. Lima –Perú.
- Mins C., Playfair J., Roit., Wakelin D., Williams R., Anderson. (1995) Microbiologia Medica. Editorial Mosby. Madrid – España.
- Morales J.L., Reyes K., Monteghirfo M., Roque M., Irey J. Presencia de  $\beta$  lactamasas de espectro extendido en dos hospitales de Lima, Perú. Perú. Med. 2005, v. 66, n°1, p. 24-32.
- Morejón García, Moisés. 2005 Betalactamasas De Espectro Extendido. Un Problema Actual. Apua-Cuba.
- Murillo O.A., Leal A.L., Eslava J.H. (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.
- Murray, P., Rosenthal, K. & Pfaller, M. 2006. Microbiología médica. 7ma edición. Madrid – España. Gea consultoría Editorial, S.L.L. 963 p.
- Navarro M., Ofelia B., Moreno N., López E., Carmelo M.C., Sánchez Padilla JA., (2005). Detección De Cepas De Escherichia Coli Y Klebsiella Pneumoniae Productoras De B-Lactamasas De Espectro Extendido (BLEE) En El Hospital Infantil Del Estado De Sonora. Bol Clin Hosp. Infant. Edo Son; 22(2): 64-70.
- Navarro F, Miró E, Mirelis B. (2002) Lectura Interpretada Del Antibiograma De Enterobacterias. Formación Médica Continuada. Servicio De Microbiología. Hospital De La Santa Creu I San Pau. Universidad Autónoma De Barcelona, España: Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.;20(5):225-34. P. 227-230.
- Ochoa, S. Eiros, B. Pérez, M. Inglada G. (2005) Etiología de las infecciones del tracto urinario y sensibilidad de los uropatógenos a los antimicrobianos. Rev. Esp. Quimioterap, Junio 2005; Vol.18 N. 2: 124-135.

- Oliver, A. & Cantón, R., 2004. Enterobacterias Productoras De Betalactamasas Plasmídicas De Espectro Extendido, Madrid: SEIMEC.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2000. Resistencia a los antimicrobianos, una amenaza mundial. Boletín de Medicamentos esenciales.
- Padilla Ch M. (2011). Detección de betalactamasas de espectro extendido (blee) en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* mediante método de jarlier.
- Peroso A., y Castellano M.J. (2009) Detección de betalactamasas de espectro extendido en cepas de la familia *Enterobacteriaceae*. Kasma.
- Reyes Baque, J., 2012. Prevalencia de infección urinaria en mujeres adultas, pacientes de consulta externa, de la seguridad social de jipijapa – manabi.
- Rivero E, Herrera M.L., Larrondo M.H., Lozano D. y Leon D. (1998) Carbapenemicos y monobactamicos. Acta Medica: 66-70.
- Rodríguez Avial, C., 2010 “*Escherichia coli*” productores de blee aislados de urocultivo: implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Romero Cabello, R., 2007. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. En: Microbiología y Parasitología Humana. México: Editorial Médica Panamericana.
- Sánchez J., Guillan., Fuster., Lopez R., Jimenez M., Y Garcia J. 2004. “Sensibilidad microbiana de *Escherichia coli* en bacteriurias en el área sanitaria del bierzo”. Revista médica.
- Sherris, D. 2010. Microbiología médica. México, Quinta edición. 776 p.
- 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. 403pp.
- Suárez C, Gudiol F. 2009 Antibióticos betalactámicos. España. Enferm. Infecc. Microbiol Clin, vol. 27, n° 2, p. 116-129.
- Stuart T. (2000) Microbiología. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México. 532pp.
- Torrice, E. & Trigo, C. (2003). Manual De Procedimientos Y Control De Calidad

Interno Método De Kirby Bauer. La Paz Bolivia OPS/OMS, 58.

Trigoso C, Damiani E, Jáuregui L. 2005. Infecciones Nosocomiales Causadas Por Bacilos Gramnegativos: El Impacto de la Resistencia Antimicrobiana en Bolivia. INLASA. Bolivia: 2005.

Tripathi. (2005). Farmacología en Odontología Fundamentos. Buenos Aires - Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Van Hoek a., Mevius D., Guerra b., Mullany P., Roberts A. and Arts H. (2011). Acquirecd antibiotic. resistance genes: an averview. Front Microbiol. 2: 203.

## ANEXOS

ANEXO A: CALCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA

**Ec. A.1** El tamaño de la muestra se estimó utilizando la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 p * q}{E^2}$$

Dónde:

n=Tamaño de muestra

Z=Límite de confianza (1.96)

p q=Campo de variabilidad de aciertos y errores (p:0.5; q:05)

E=Nivel de precisión (0.05)

Reemplazando:

$$n = \frac{1.96^2 (05 * 0.5)}{0.05^2} = 384$$

Corrección para poblaciones finitas: Cuando se conoce el tamaño de la población en estudio se corrige la muestra, en nuestro caso la población estimada de pacientes que asisten al Hospital Regional Manuel Núñez Butrón, es de 50 pacientes tomando en cuenta datos anteriores de octubre, noviembre y diciembre del 2015 en un periodo de estudio de (3 meses), entonces:

$$n_o = \frac{n}{1 + \frac{n-1}{N}} \quad n_o = \frac{384}{1 + \frac{384-1}{50}} = 44$$

Dónde:

n<sub>0</sub>=Tamaño de muestra ajustada

n=Valor de la muestra inicial

N=Población

La muestra corregida será de 44 pacientes para el estudio

**Ec.A.2. Prueba de chi cuadrado ( $\chi^2$ )****Formula:**

$$\chi_c^2 = \sum_{i=1}^f \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Dónde:

 $\chi_c^2$  : Ji-cuadrado calculado. $O_{ij}$  : Frecuencias observadas de la i-ésima fila y j-ésima columna. $E_{ij}$  : Frecuencias esperadas de la i-ésima fila y j-ésima columna, aquella frecuencia que se observaría si ambas variables fuesen independientes.

f y c : filas y columnas respectivamente.

**ANEXO B****Tabla 7.** Puntos de corte estandares (clsi) para tamizaje de cepas BLEE

ANTIBIOTICO- CONCENTRACION mg	HALO DE INHIBICION
Aztreonam 30 ug	≤27
Ceftazidima 30 ug	≤22
Cefotaxima 30 ug	≤27
Ceftriaxona 30 ug	≤25

Fuente: Instituto Nacional de Salud. (2002).

**Tabla 8.**Tabla comparativa de medición de halos de inhibición de antibióticos y diámetros críticos para enterobacterias.

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
<b>PENICILINAS</b>				
Ampicilina	10 µg	£ 13	14-16	³17
<b>CEFALOSPORINAS</b>				
Cefalotina	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefuroxima axetil (oral)	30 µg	£ 14	15-22	³23
Cefuroxima sodium (parenteral)	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefoxitina	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefotaxima	30 µg	£ 14	15-22	³23
Ceftriaxona	30 µg	£ 13	14-20	³21
Ceftazidima	30 µg	£14	15-17	³18
Cefixima	5 µg	£ 15	16-18	³19
Cefpirome *	30 µg	£ 14	15-17	³18
Cefepime	30 µg	£ 14	15-17	³18
<b>B LACTAMICO/ INHIBIDOR DE BETALACTAMASA</b>				
Ampicilina/Sulbactam	10/10 µg	£ 11	12-14	³15
Amoxicilina/Ácido Clavulánico	20/10 µg	£ 13	14-17	³18
Cefoperazona/sulbactam +	75 µg/30 µg	£ 15	16-20	³21
<b>MONOBACTAMS</b>				
Aztreonam	30 µg	£ 15	16-21	³22
<b>CARBAPENEMS</b>				
Imipenem	10 µg	£ 13	14-15	³16
Meropenem	10 µg	£ 13	14-15	³16
<b>AMINOGLUCOSIDOS</b>				
Gentamicina	10 µg	£ 12	13-14	³15
Amikacina	30 µg	£ 14	15-16	³17
<b>QUINOLONAS</b>				
Acido nalidíxico	30 µg	£ 13	14-18	³19
Norfloxacin	10 µg	£ 12	13-16	³17
Ciprofloxacina	5 µg	£ 15	16-20	³21
Ofloxacin	5 µg	£ 12	13-15	³16
<b>TETRACICLINA</b>				
Tetraciclina	30 µg	£ 14	15-18	³19
<b>OTROS</b>				
Cloramfenicol	30 µg	£ 12	13-17	³18
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25/23,75µg	£ 10	11-15	³16

Fuente. (CLSI, 2010)

**Tabla 9. Reacciones bioquímicas de enterobacterias**

• **GRUPO I HIDRÓGENOS SULFURADOS (H<sub>2</sub>S) POSITIVOS)**

Aerogenicos (gas positivo)

TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CITRATO	UREA	MOV	ENTEROBACTERIAS
K/A	2+	4+	K/K	-	+	-	-	<i>Salmonella</i>
K/A o A/A	2+	4+	K/K	-	+	-	+	<i>Arizona</i>
K/A o A/A	2+	4+	K/A	-	+	+	+	<i>Citrobacter</i>
K/A o A/A	2+	4+	R/A	- o +	D	+	+	<i>Proteus</i>
K/A	2+	4+	K/K	+	-	-	+	<i>Edwardsiella</i>

• **GRUPO II HIDROGENO SULFURADO (H<sub>2</sub>S) NEGATIVO**

Aerogenos (gas positivo)

TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	ENTEROBACTERIAS
A/A o K/A	2+	-	K/K o K/A	+	-	-	V	<i>Escherichia coli</i>
A/A	4+	-	K/K	+ o -	+	+	-	<i>Klebsiella</i>
A/A o K/A	3+	-	K/K o K/A	-	+	D	+ o V	<i>Enterobacter</i>
K/A o A/A	2+	-	K/K	-	+	-	+ o V	<i>Serratia</i>
K/A	+	-	K/A o R/A	+	D	+	+	<i>Proteus</i>
K/A	+	-	K/A o A/A	+	+	-	V	<i>Paratyphi A</i>

Anaerogenicos (gas negativo)

TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CIT	UREA	MOV	ENTEROBACTERIAS
K/A	-	-	K/A	+ o -	-	-	-	<i>Shigella</i>
A/A o K/A	-	-	K/K o K/N	+	-	-	V	<i>Escherichia coli</i>
A/A o K/A	-	-	K/A	+ o -	+	D	+ o V	<i>Enterobacter</i>
A/A	-	-	K/K	-	+	-	+ o V	<i>Serratia</i>
K/A	-	-	R/A	+	D	+	+	<i>Proteus</i>
K/A	-	-	R/A	+	+	-	+ o -	<i>Providencia</i>
A/A	-	-	A/A o K/A	+ o -	-	V	V	<i>Yersinia</i>

K = alcalino    A = acido    R = rojo    N = neutro    D = desconocido    V = variable

**ANEXO C**

**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS**

**I. Datos personales**

Nombres y apellidos:.....

Edad:.....

Sexo:.....

Estado civil: Soltero ( ) Casado ( ) Conviviente ( )

Diagnóstico clínico.....

Paciente: hospitalario ( ) consultorio externo ( )

**II. Antecedentes de ITU:** Si ( ) No ( )

Nº de episodios: .....

Nº de hospitalizaciones:.....

Antibióticos consumidos dentro de las 48 horas: Si ( ) No ( )

Urocultivo: Si ( ) No ( )

**III. Análisis en laboratorio**

Urocultivo: Positivo ( ) Negativo ( )

Germen aislado.....

Recuento de colonias.....UFC/ML

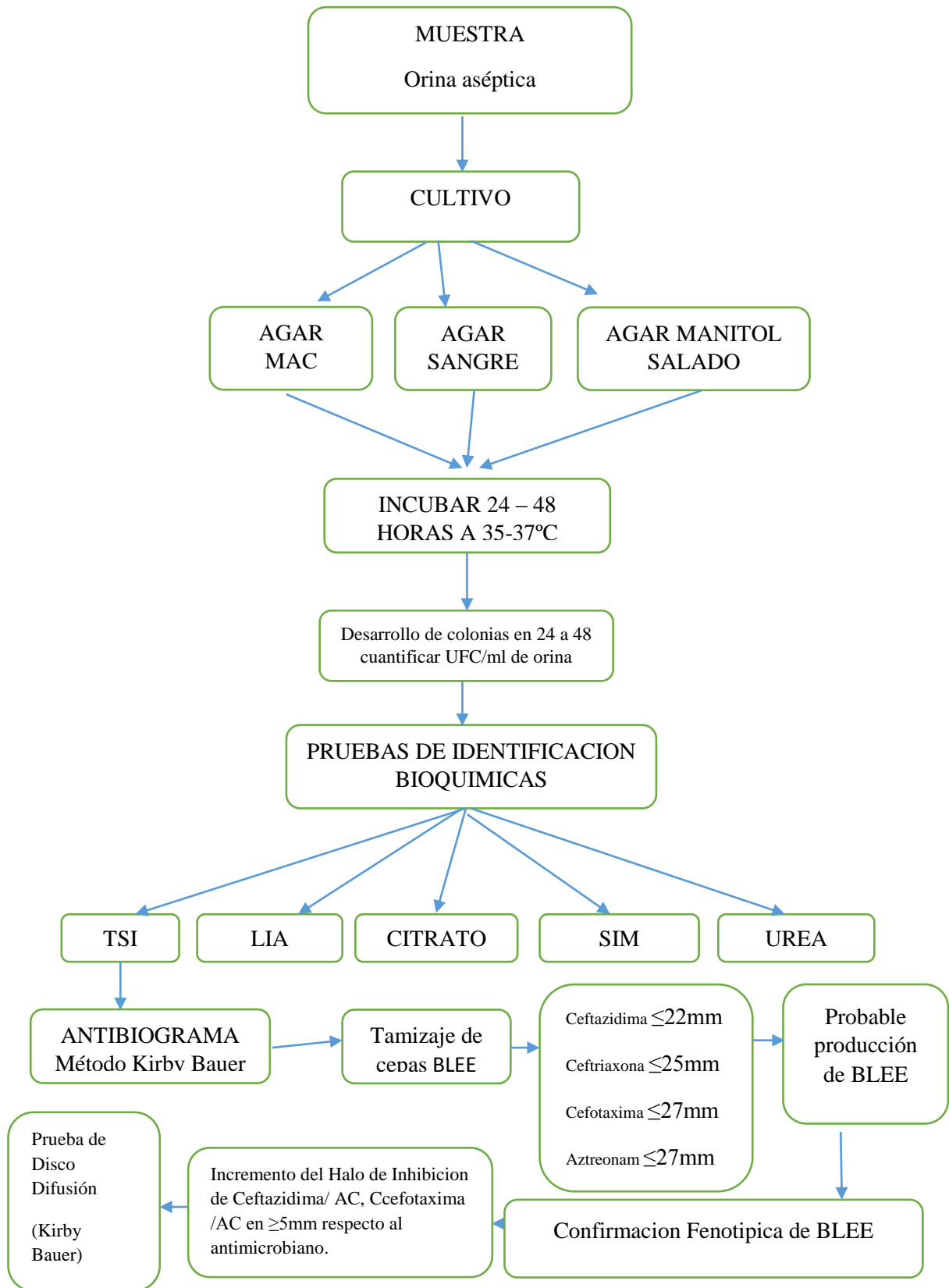
**IV.ANTIBIOGRAMA**

<b>Antimicrobiano</b>	<b>Sensible</b>	<b>Intermedio</b>	<b>Resistente</b>	<b>Confirmación de BLEE</b>
Aztreonam				
Ceftazidima				
Cefotaxima				
Ceftriaxona				
Amoxicilina /ácido clavulanico				
fosfomicina				
ciprofloxacino,				
amikacina,				
imipenem,				
gentamicina.				



**ANEXO D**

**Figuras 13.** Flujograma de aislamiento, identificación, detección y confirmación de *Escherichia coli* productores de betalactamasa de espectro extendido (BLEE)



**ANEXO E**

**Figuras de la investigación**

**Figura 14.** Materiales para la preparación de medios de cultivo.



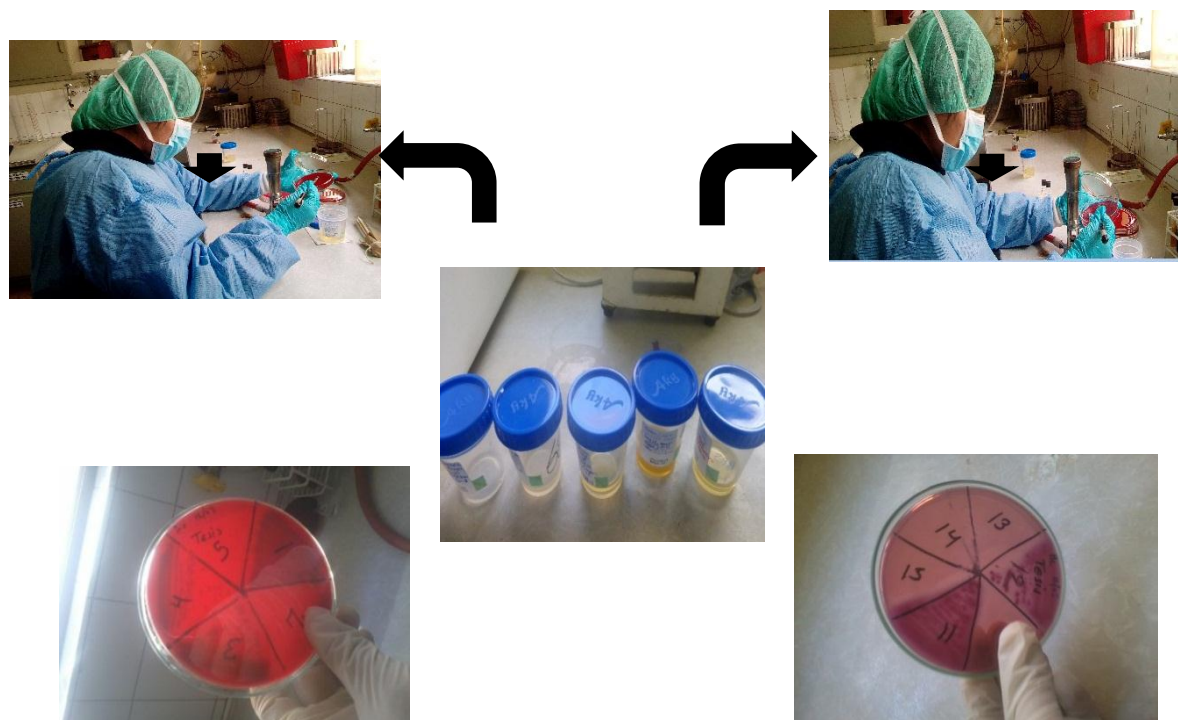
**Figura 15.** Medios de cultivos listos para poner al autoclave como: Mac conkey, muller Hinton, Cleed, Agar sangre, Manitol Salado.



**Figura 16.** Medios de cultivo listos para la inoculación y sembrado de muestras de orina; para luego guardarlo en el refrigerador a 8°C para que no haya una contaminación de dichos medios.



**Figura 17.** Muestras de orina en frascos estériles y crecimiento de enterobacterias uropatogenas en agar MacConkey y agar sangre.



**Figura 18.** Crecimiento en los medios diferenciales para aislar *Escherichia coli* uropatogena.



**Figura 19.** Discos antimicrobianos usados para realizar la confirmación de BLEE y la susceptibilidad de otros antibióticos.



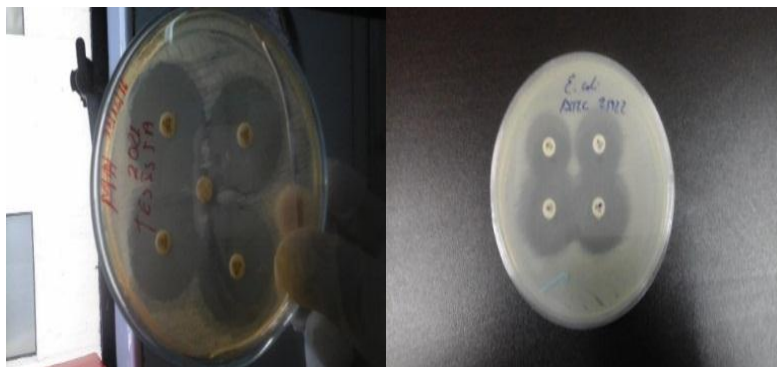
**Figura 20.** Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana y pruebas de confirmación para BLEE.



**Figura 21.** Incubando todos los medios de cultivo Mc conkey, Agar sangre, Cleed y medios diferenciales en la estufa a 37°C por 24 horas para su crecimiento.



**Figura 22.** Resultados de los antibiogramas Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) positivo.



PERÚ  
Ministerio  
de Salud**HOSPITAL REGIONAL "MANUEL NUÑEZ BUTRÓN"**  
AV. EL SOL N°1022

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

"Año del buen servicio al ciudadano"

**CONSTANCIA****El jefe del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica del Hospital Regional "Manuel Núñez Butrón" de Puno.****HACE CONSTAR:**

Que la Srta. Andrea Celeste APAZA HUMPIRI bachiller de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha realizado su trabajo de investigación: *Escherichia coli* **PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN PACIENTES CON INFECCION DEL TRACTO URINARIO QUE ACUDEN AL HOSPITAL REGIONAL "MANUEL NUÑEZ BUTRON"- PUNO**, durante los meses de diciembre del 2016 a febrero del 2017.

Se expide el presente a solicitud personal para fines administrativos que crea por conveniente.

Puno, 22 de diciembre de 2017.

Atentamente,


Dr. Francisco A. Lajo Soto  
Patólogo Clínico y Anatómico Patólogo  
JEFE DE DEPARTAMENTO  
CMP. 18965 RNE. 13738