

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA MEDICINA



TESIS

Para optar al título de Médico y Cirujano
FENOTIPOS DE *ESCHERICHIA COLI* ANTIBIOTICOS RESISTENTES
AISLADAS EN UROCULTIVOS DE PACIENTES QUE ACUDEN AL
SERVICIO DE EMERGENCIA DE MEDICINA INTERNA-HEODRA
FEBRERO 2015 - AGOSTO 2016

Autoras: Br. Marbely Carolina García Valdivia

Br. Lucia Noelia Lacayo Arostegui

Tutores: Dr. Daniel Reyes Navarrete. MSc., Ph.D

Profesor Titular Departamento Microbiología UNAN-León.

Dr. Armando José Matute. MSc., Ph.D

Médico Internista Infectólogo.

Profesor Titular del Departamento de Medicina Interna UNAN-León.

León, Enero del 2017

“A la libertad por la Universidad”

DEDICATORIA

A Dios por la vida y sabiduría que me ha regalado.

A mi familia, en especial a mi mamá Norma Elena Prado y mi papá Santiago Tomás García, a quienes les debo toda mi vida, les agradezco el cariño, su comprensión y el haberme formado con buenos sentimientos, hábitos y valores; lo cual me ha ayudado a salir adelante y culminar esta etapa en mi vida.

Marbely Carolina García Valdivia

A Dios por haberme dado la vida, sabiduría y oportunidad para estudiar.

A mis padres Luz Arostegui y Reynaldo Lacayo, por estar siempre a mi lado, por mostrarme en cada momento su apoyo incondicional y el interés para que estudie y me desarrolle completamente en todos los aspectos de mi vida.

A mi tía Margarita Lacayo que siempre ha sido parte importante en mi vida, pues siempre me ha acompañado sin importar las circunstancias y a la vez me ha apoyado brindándome su amistad y comprensión.

Lucia Noelia Lacayo Arostegui

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos primeramente a Dios por darnos sabiduría y paciencia para poder culminar la realización de nuestra tesis.

Gracias a nuestra familia por apoyarnos en el cumplimiento de nuestras metas personales y académicas.

A nuestros tutores Dr. Daniel Reyes Navarrete y Dr. Armando Matute, por la gran ayuda brindada para la realización de este trabajo. Principalmente por su confianza, orientación, paciencia, disponibilidad, consejos, y sobre todo por permitirnos formar parte del estudio que llevaron a cabo, a la vez por proporcionarnos información importante y materiales para la realización de este trabajo

A la Dra. Idania Escalante por su ayuda, paciencia y orientación.

Al personal del Laboratorio de Bacteriología del HEODRA y del Departamento de Microbiología y Parasitología de la UNAN-León, quienes colaboraron en la realización de este estudio.

Simplemente decir gracias a todos no es suficiente, pero es la única manera de poder expresar nuestra gratitud a todos ustedes.

Marbely García y Lucia Lacayo

OPINIÓN DEL TUTOR

El desarrollo de una investigación es satisfactorio cuando todas las partes involucradas permiten un buen manejo y ejecución del proyecto que resulta en promover cambios de estilos de vida saludables.

El presente trabajo, fue orientado con el propósito de enriquecer los conocimientos y obtener una información que soporte una propuesta de planes estratégicos para mejorar la calidad de la atención en un centro de atención de referencia regional, como lo es el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello, León.

En este sentido, puedo expresar muy emotivamente, que las autoras principales de este trabajo, bachilleras Marbely Carolina García Valdivia y Lucia Noelia Lacayo Arostegui, jugaron un papel importante, y porque no decir, muy constante y responsablemente durante el período propuesto para el mismo. Sobre todo, que es una temática de poco dominio y de elaboración en nuestro medio; que pocos se dedican con la pasión y entrega verdadera como lo realizaron dichas Bachilleras.

Dr. Daniel Reyes

RESUMEN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) constituyen una de las infecciones más frecuentes en la población. El principal microorganismo causante de ITU es la *E. coli* (80 a 90%). Considerando lo anterior, se planteó la idea de realizar un estudio de corte transversal durante el período de Febrero 2015 - Agosto del 2016 con el objetivo de determinar el patrón de resistencia antimicrobiana en fenotipos bioquímicos de *E. coli* aislados en urocultivos de pacientes que acudieron al servicio de emergencia de Medicina Interna del HEODRA.

En total se obtuvieron doscientas veintidós muestras a las cuales se les realizó urocultivo, de éstas en el 48.6% (n=108) hubo crecimiento bacteriano de las cuales en el 68.5% (n=74) se aisló *E. coli*, en donde se les encontró altas tasas de resistencia principalmente a amoxicilina, kanamicina y trimetoprim/sulfametoxazol, ciprofloxacina, ceftriaxona, ceftazidima y cefepime.

Al 39% (n=29) de los aislados de *E. coli* se les realizó fenotipificación con pruebas bioquímicas (PhenePlate), encontrándose la presencia de 4 fenotipos comunes y 13 fenotipos no comunes. Se identificó que el 30% (n=22) de los aislados eran productores de BLEE, entre éstas el patrón de multi-resistencia que predominó (n=8) fue amoxicilina + ceftazidima+ ciprofloxacina + ceftriaxona + cefepime + kanamicina + trimetoprim/sulfametoxazol.

Este estudio indica la posible aparición de fenotipos bacterianos con circulación endémica como potenciales patógenos por su multi-resistencia, debido a marcadas características de resistencia antimicrobiana como BLEE.

Palabras Claves: Infección del Tracto Urinario, *Escherichia coli*, Antibiótico resistencia, Fenotipo, Patrón de resistencia, BLEE.

ÍNDICE

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
OPINIÓN DEL TUTOR	III
RESUMEN	IV
ÍNDICE	V
ABREVIATURAS/CONCEPTOS DE TÉRMINOS	VI
1 Introducción.....	1
2 Antecedentes.....	3
3 Justificación	5
4 Planteamiento del problema.....	6
5 Objetivos.....	7
5.1 General.....	7
5.2 Específicos.....	7
6 Marco Teórico	8
6.1 Infección del tracto urinario	8
6.1.1 Definición.....	8
6.1.2 Epidemiología	9
6.1.3 Factores de Riesgo	9
6.1.4 Clasificación.....	10
6.1.5 Métodos Diagnósticos.....	11
6.2 Antibióticos β -lactámicos para enterobacterias.....	14
6.3 Mecanismo de resistencia de gram negativas.....	17
6.3.1 Mecanismo de resistencia bacteriana en <i>E. coli</i>	18
6.4 Métodos fenotípicos de detección de BLEE.....	19
7 Material y Método.....	22
7.1 Tipo y Área de Estudio.....	22
7.2 Población	22
7.3 Muestra y muestreo	22
7.4 Criterios de inclusión.....	22
7.5 Criterios de exclusión	22
7.6 Fuente de información.....	23
7.7 Ficha de recolección de datos	23
7.8 Recolección de muestras biológicas	23
7.9 Consideraciones éticas	26
7.10 Análisis de datos	27
7.11 Operacionalización de variables.....	28
8 Resultados.....	29
9 Discusión	33
10 Conclusión	37
11 Recomendaciones.....	38
12 Anexos	39
13 Referencias	44

ABREVIATURAS/CONCEPTOS DE TÉRMINOS

Abreviatura	Descripción
ITU	Infecciones del tracto urinario
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
HEODRA	Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello
BLEE	Beta-lactamasa de espectro extendido
HMICH	Hospital Materno Infantil de Chinandega
UFC	Unidades formadoras de colonias
AmpC	Enzima Betalactamasa tipo AmpC (cefalosporinas medidas cromosómicamente)
IRT	Enzimas resistentes a inhibidores de betalactamasas
RVU	Reflujo vesicouretral
rpm	Revoluciones por minutos
EMB	Eosina azul de metileno
PhP	PhenePlate
<i>spp</i>	Species
TEM	Enzima betalactamasa tipo TEM ("Temonieta")
SHV	Enzima betalactamasa tipo SHV ("Variedad sulfidrilo")
PBPs	Proteínas fijadoras de penicilina
ARN	Ácido ribonucleic
AND	Ácido desoxirribonucleico
CLSI	Instituto de estándares clínicos y de laboratorio
CLED	Cisteína lactosa con deficiencia de electrolito
FBc	Fenotipos communes
Fbsi	Fenotipos no communes

1 INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario (ITU) es la infección bacteriana más frecuente que afecta a ambos sexos, se estima que el 50-80% de las mujeres han tenido un episodio de ITU como mínimo durante su vida, después de los 50 años la incidencia de ITU es casi igual en ambos géneros ya que los casos aumentan en varones debido a obstrucción por hipertrofia prostática ⁽¹⁾.

Los datos publicados demuestran un incremento a escala mundial en la resistencia de *E. coli* a antibióticos que pueden utilizarse para combatir ITU. Las encuestas llevadas a cabo en Estados Unidos y en Europa sobre *E. coli* aisladas de mujeres con cistitis agudas han corroborado tasas de resistencia a trimetoprim/sulfametoxazol >20% y tasas de resistencia a la ciprofloxacina entre 5 y 12% en algunas regiones ⁽¹⁻³⁾.

A nivel nacional se han realizado estudios que encontraron a *E. coli* como el uropatógeno predominante, reportándose cambios en sus patrones de resistencia. Datos obtenidos por estos estudios son similares a los informes de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos Nacional 2002-2010, que reporta un incremento en la resistencia a los β -lactámicos y fluoquinolonas ⁽⁴⁻⁸⁾.

Bours. P., Matute. A., y cols en 2010, mostraron una alta resistencia a ampicilina (61.4%), cefalotina (45%), trimetoprim/sulfametoxazol (38.6%), ciprofloxacina (31.8%), y observando patrones de sensibilidad mayores del 90% para amikacina y nitrofurantoína, sin resistencia a meropenem, pero con un incremento del 20% de resistencia para ceftriaxona ⁽²⁾.

En el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales (HEODRA) de la ciudad de León y Hospital Materno Infantil de Chinandega (HMICH), se han realizado varios estudios sobre aspectos clínicos-epidemiológicos y microbiológicos, en el área de gineco-obstetricia, reportándose en ambos centros asistenciales la circulación de fenotipos comunes de *E. coli* ^(9,10). Sin embargo, no se han realizado estudios en el servicio de medicina interna para la vigilancia epidemiológica de los fenotipos bioquímicos de *E. coli*.

Estos esfuerzos todavía no completan el vacío científico respecto a si estas infecciones son producidas por la circulación de fenotipos comunes de *E. coli* en esta población, con marcadas características de resistencia antimicrobiana. Es por tal razón que con este estudio se pretendió analizar aislados de *E. coli* asociadas con ITU, utilizando la combinación de un método de tipificación bioquímico (*PhenePlate*) y de antibiograma, para determinar los fenotipos bioquímicos de *E. coli* y sus patrones de antibiótico resistencia. Todo esto con la finalidad de ofrecer información actualizada basada en evidencia científica para ser consideradas en el manejo de este tipo de pacientes, teniendo en cuenta los fenotipos bioquímicos de *E. coli*.

2 ANTECEDENTES

Las ITUs son toda invasión microbiana del aparato urinario que sobrepasa la capacidad de defensa del individuo afectado. Dichas infecciones figuran entre las más comunes, siendo la segunda causa de infecciones después de las infecciones de las vías respiratorias ⁽¹¹⁾.

Se estima que globalmente ocurren al menos 150 millones de casos de ITU por año. En el año 2009 en Estados Unidos (EEUU) hubo 8.6 millones de consultas médicas por ITU, del cual el 84% de los casos ocurrió en mujeres cuyo pico de incidencia fue la edad de máxima actividad sexual (18-39 años) ⁽³⁾. En Nicaragua un estudio realizado en el 2008 por Den Engelsen. C., Matute. A. y cols mostró que el 77.4% de las ITU fue en mujeres ⁽¹¹⁾.

En España, Alonso. S. y cols reportaron *E.coli* en el 77% de los urocultivos, evidenciando altas tasas de resistencia a la ampicilina (57%) y el trimetoprim/sulfametoxazol (29%) ⁽¹²⁾. En EEUU para el 2009, Olson R y cols., encontraron en *E.coli* resistencia a trimetoprim/sulfametoxazol del 29.6% y a ciprofloxacina del 11.8% ⁽³⁾.

Sin embargo en los países latinoamericanos se observan algunas diferencias respecto a la antibiótico resistencia, ya que en Colombia, Pérez. N. y cols en el año 2009 reportaron resistencia a ampicilina (68.7%), cefalotina (37.7%), ciprofloxacina (33.5%), gentamicina (23.6%) y trimetoprim/sulfametoxazol (55%) ⁽¹³⁾. Ramírez R en el año 2005 reportó que *E. coli* fue el principal agente (68%) uropatógeno en El Salvador, con tasas de resistencia de 88% para amoxicilina y nitrofurantoína, 48% para trimetoprim/sulfametoxazol y 44% para ciprofloxacina ⁽¹⁴⁾.

En 2004, Matute. A. y cols., observaron altas tasas de resistencia en *E. coli* a la amoxicilina (82%), trimetoprim/sulfametoxazol (64%), cefalotina (58%), ciprofloxacina (30%), amoxicilina/ácido clavulánico (21%) y gentamicina (12%) y menor resistencia a

ceftriaxona, amikacina y nitrofurantoína, siendo este el primer estudio que determinaba resistencia en Nicaragua ⁽⁸⁾. En 2010 se realizó con la misma población otro estudio posterior a la implementación de guías de manejo específicas, Bours. P. Matute. A., y cols mostró que la tasa de resistencia de *E. coli* fue principalmente para ampicilina (61.4%), cefalotina (45.5%), trimetoprim/sulfametoxazol (38.6%), ciprofloxacina (31,8%), gentamicina (25%), ceftriaxona (20,5%) y amoxicilina/ácido clavulánico (18.6%). ⁽²⁾.

En España, en el año 2003, el patrón de resistencia más frecuente fue la de ampicilina y cefalotina (20.2%), seguido de ampicilina, cefalotina y piperacilina con sensibilidad disminuida a amoxicilina/ácido clavulánico (11.19%). ⁽¹²⁾

La resistencia debida a otros mecanismos, tales como AmpC, IRT y BLEE fue muy baja en España ⁽¹²⁾. En El Salvador, en 2005, el 94% de las cepas de *E. coli* fueron multirresistentes ⁽¹⁴⁾.

Cabrera y Franco realizaron un estudio en 2012 sobre fenotipos de *E.coli* y su patrón de resistencia en el HEODRA y HMICH, obtuvieron un total de 124 aislados de *E.coli* de los que reportaron 22 fenotipos comunes, cuyo patrón de resistencia más frecuente fue para amoxicilina/ácido clavulánico + cefepime + gentamicina + ciprofloxacina + ceftriaxona + trimetoprim/sulfametoxazol. Además, de la multi-resistencia entre los aislados de *E. coli*, se logró identificar la presencia del mecanismo de resistencia para la producción de BLEE en el 20% de los aislados entre ambos centros asistenciales, determinado principalmente para amoxicilina/ácido clavulánico, cefepime y ceftriaxona ⁽⁹⁾.

3 JUSTIFICACIÓN

Las ITUs son un problema de salud, siendo la segunda causa de infección que afecta tanto a hombres como a mujeres después de las infecciones del tracto respiratorio ⁽¹¹⁾.

El agente etiológico más frecuente de ITU en ambos sexos es *E. coli*, el cual según estudios previos ha adquirido resistencia a diversos fármacos como a la ampicilina, cefalosporinas de primera generación, cotrimoxazol y carbapenem ⁽¹⁵⁾.

Se han realizado estudios acerca de los grupos fenotípicos bioquímicos de *E.coli* antibióticos resistentes causantes de ITU en los hospitales de León y Chinandega, pero teniendo como área de estudio el departamento de Gineco-obstetricia ⁽¹³⁻¹⁵⁾.

No obstante, poco se sabe acerca de si existe una alta prevalencia de cepas endémicas o si la infección se debe a la propagación de clones de *E.coli*. Considerando lo anteriormente descrito, el objetivo fundamental del presente estudio fue determinar el patrón de resistencia y fenotipos bioquímicos de *E. coli* aislados en las muestras de orina de los pacientes del servicio de emergencia de medicina interna del HEODRA con ITU, para que con los resultados obtenidos se aporte al manejo de las ITUs y así poder garantizar una terapia antimicrobiana mejor dirigida hacia el principal agente etiológico como lo es *E.coli*.

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las ITUs se encuentran entre las patologías más frecuentes, por lo que es una de las principales causas de consultas médicas y de interés mundial, cuyo principal agente patógeno es la *E. coli*.

Con el paso del tiempo ha cambiado el patrón de resistencia para *E. coli* asociadas a ITU⁽¹⁶⁾, lo cual genera un problema significativo en Nicaragua. Como consecuencia, el tratamiento empírico debe adaptarse a esta situación para disminuir la aparición de resistencias. Sin embargo, no se han realizado estudios en el servicio de emergencia de medicina interna del HEODRA sobre fenotipos bioquímicos de *E.coli* y su resistencia antibiótica, por lo que a través de este estudio se dió respuesta a este tópico.

Ante esta situación y considerando la importancia que tiene este problema de salud nos propusimos investigar: **¿Cuál es el patrón de resistencia antimicrobiana y fenotipos bioquímicos de *E. coli* aislados en urocultivos de pacientes atendidos en el servicio de Emergencia de Medicina Interna del HEODRA entre Febrero 2015 - Agosto 2016?**

5 OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Determinar el patrón de resistencia antimicrobiana y fenotipos bioquímicos de *E. coli* aislados en urocultivos de pacientes que acuden al servicio de emergencia de Medicina Interna del HEODRA durante el período de Febrero 2015 - Agosto 2016.

5.2 ESPECÍFICOS

- Determinar la frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de *E.coli*
- Determinar el patrón de resistencia antimicrobiana a los aislados de *E. coli* productoras de β Lactamasas de Espectro Extendido.
- Identificar los fenotipos bioquímicos de *E. coli* aislados en urocultivos de los pacientes en estudio.

6 MARCO TEÓRICO

6.1 INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO

6.1.1 Definición

La infección del tracto urinario (ITU) es el resultado de la invasión por diversos microorganismos, de cualquier sitio del aparato urinario, entre la uretra y los riñones (en ocasiones puede afectar varios sitios a la vez) y que puede o no causar síntomas ⁽¹⁷⁾. La definición microbiológica de una ITU exige no solo la presencia de gérmenes en las vías urinarias sino también de bacteriuria significativa, lo que se refiere a que la cifra de bacterias en la orina es mayor que el número que normalmente se obtendrá al contaminarse la orina con la uretra, es decir su cuantificación en al menos 10^5 unidades formadoras de colonias (UFC)/ mL de orina ⁽¹⁸⁾. En el caso de los hombres, quienes tienen menor probabilidad de contaminación, se considera como sugerente de infección una cifra de 10^3 UFC/mL ⁽¹⁹⁾. El diagnóstico de bacteriuria significativa en pacientes cateterizados se hace con valores de 10^2 UFC/ml ⁽²⁰⁾.

La Infección de vías urinarias puede ser recurrente y debe documentarse con cultivo al menos tres ocasiones en un año, o dos en un período de seis meses y se define como aquella que ocurre después de haber documentado la resolución exitosa de una infección previa, puede deberse a recaída o reinfección ⁽¹⁷⁾.

- **Recaída:** es la recurrencia de la bacteriuria con el mismo microorganismo infectante que estaba presente antes de iniciar la antibioticoterapia y, que por algún motivo, dicho patógeno permaneció en el aparato urinario ⁽¹⁷⁾.
- **Reinfección:** es una recurrencia de la bacteriuria con microorganismos diferentes del que originalmente causó la infección. La reinfección puede ser por el mismo microorganismo que persistió en el área perianal, por lo que se puede diferenciar de una recaída ⁽¹⁷⁾.

6.1.2 Epidemiología

Se estima que globalmente ocurren al menos 150 millones de casos de ITU por año. En EEUU, 7 millones de consultas son solicitadas cada año por ITU. Las mujeres jóvenes son comúnmente afectadas, con una frecuencia estimada de 0.5 a 0.7 infecciones por año. Del total de las mujeres afectadas por una ITU, el 25% al 30% desarrollará infecciones recurrentes que no están relacionadas con alguna anomalía del tracto urinario, ya sea funcional o anatómica. En cambio, la incidencia estimada de ITU en los hombres jóvenes con respecto a las mujeres de la misma edad es significativamente inferior, 5 a 8 infectados por 10 000, estas diferencias tienden a igualarse después de los 60 años de edad. La prevalencia de ITU o bacteriuria asintomática en el anciano es de 10% a 50%, y es moderadamente más elevada en las mujeres. Las infecciones urinarias asociadas con sondas vesicales constituyen el 35% a 40% de todas las infecciones nosocomiales en general, 10% de los pacientes cateterizados por corto tiempo (< 7 días) y 15% de los cateterizados por más de 7 días desarrollan infección, con un riesgo diario de 5% ⁽²¹⁾.

6.1.3 Factores de Riesgo

➤ Alteraciones al libre flujo

a. Orgánicas

- Reflujo vesicouretral (RVU): al asociarse a ITU comporta un gran poder destructivo, cicatrización renal secundaria y lesión renal progresiva ⁽²²⁾.
- Instrumentación: uso de cateterismos urinarios o cirugía endoscópica ⁽²²⁾.
- Obstrucción: es el factor más importante de persistencia de ITU ya que donde el recambio de orina es incompleto existe mayor crecimiento bacteriano. La obstrucción puede deberse a cáncer de próstata, litiasis, tumor, compresión extrínseca ⁽²²⁾.

b. Funcionales

- Embarazo y disfunción vesical: por vejiga neurógena, inestabilidad vesical o incontinencia ⁽²²⁾.

c. Estructurales

- Malformaciones en el tracto urinario, tras una derivación sobre las vías urinarias, complicación quirúrgica como fístulas u obstrucciones iatrogénicas ⁽²²⁾.

➤ **Factores predisponentes o agravantes**

Diabetes Mellitus: predispone a ITU y pielonefritis aguda de mayor gravedad, sobre todo en la mujer gestante y ancianas. Compromiso inmune, edad avanzada, hospitalización, insuficiencia renal crónica ⁽²²⁾.

6.1.4 Clasificación

Las ITUs se clasifican de acuerdo a:

➤ Sitio anatómico donde ocurre la infección:

- ITU baja: colonización bacteriana a nivel de uretra y vejiga que se asocia a la presencia de síntomas y signos urinarios, como urgencia, disuria, polaquiuria, turbidez y olor fétido de la orina. Incluye a la cistitis y uretritis ⁽²¹⁾.
- ITU alta: presencia de signos y síntomas de ITU baja asociada a colonización bacteriana a nivel uretral y del parénquima renal, con signos y síntomas sistémicos (escalofríos, fiebre, dolor lumbar, náuseas y vómitos). Incluye a la pielonefritis ⁽²¹⁾.

➤ Presencia de problemas de fondo:

- ITU complicada: infección que ocurre en tracto urinario que tiene anormalidades estructurales y funcionales, incluyendo cálculos y uso de sondas urinarias ⁽¹⁷⁾.
 - ITU no complicada: infección que ocurre en un tracto urinario estructural y funcionalmente normal ⁽¹⁷⁾.
- Según el sitio donde ocurrió la infección:
- ITU adquirida en la comunidad: cuando el paciente adquiere la infección fuera del hospital y no ha estado hospitalizado durante el último año, amerita presentar la sintomatología y que el urocultivo arroje un resultado positivo al ingreso o en las primeras 48 horas ⁽¹⁷⁾.
 - ITU intrahospitalaria: cuando el paciente adquiere la infección dentro del hospital, favorecida por procedimientos efectuados en el enfermo (cateterismos, colocación de sondas, etc) ⁽¹⁷⁾.

6.1.5 Métodos Diagnósticos

Obtención de muestra de orina:

La concentración de bacterias es mayor en la primera orina de la mañana, y aunque no es imprescindible, es el momento óptimo para obtener muestras para cultivo; asimismo, en esta muestra la sensibilidad de la prueba de los nitritos es mayor ⁽²³⁻²⁵⁾.

La orina de micción media es la muestra más frecuentemente obtenida para diagnóstico microbiológico. Aunque su obtención es fácil, exige una recogida cuidadosa para evitar la contaminación, especialmente en mujeres. Tradicionalmente se ha recomendado el lavado del área genital antes de la obtención de la muestra y que la misma no entre en contacto con los genitales externos. En los varones la contaminación es menos frecuente, y para una recogida correcta suele bastar con retraer la piel del prepucio ⁽²³⁻²⁵⁾.

La muestra de orina para cultivo puede también obtenerse directamente de la vejiga por sondaje vesical, evitando la posible contaminación con la flora uretral. Sin embargo, el sondaje vesical puede introducir microorganismos en la vejiga y producir una ITU iatrogénica, y sólo se indica cuando no es posible obtener muestra por micción media, como es el caso de pacientes inmovilizados, obesos, con alteraciones neurológicas, niños, etc⁽²⁴⁻²⁶⁾.

La punción-aspiración suprapúbica permite obtener orina directamente de la vejiga a través de la pared vesical y es la técnica de elección en pacientes en los que no es posible obtener orina libre de contaminantes. Una vez obtenida la muestra de orina, el transporte al laboratorio debe realizarse en el plazo de tiempo más breve posible ya que, después de 2 horas a temperatura ambiente, la multiplicación de microorganismos en la muestra puede dar lugar a resultados microbiológicos erróneos. Si el transporte o procesamiento no pueden realizarse inmediatamente, es necesario refrigerar las muestras a 4 °C, lo cual permite su conservación durante unas 24 horas⁽²³⁻²⁵⁾.

- a. Examen general de orina:** en este estudio se usan tiras reactivas para detectar la presencia de nitritos, esterasa leucocitaria, hemoglobina, glucosa y proteínas, de éstos, los dos primeros son los idóneos para diagnosticar ITU⁽¹⁷⁾.

Los nitritos son el resultado de la conversión de nitratos que se obtienen de la dieta por acción de las reductasas producidas por bacterias gramnegativas que se encuentran en la orina. Pueden haber resultados falsos negativos cuando la infección es causada por un grampositivo, la orina no ha sido retenida el tiempo suficiente para que pueda ocurrir la reducción, etc⁽¹⁷⁾.

Los granulocitos tienen esterasas que favorecen la hidrólisis y liberación de un compuesto pirrol que es el factor causal de la reacción. Los resultados falsos negativos ocurren ante concentraciones altas de glucosa, altas concentraciones urinarias de cefalosporinas o tetraciclinas, etc⁽¹⁷⁾.

El análisis microscópico del sedimento que resulta de centrifugar 5 a 10mL de orina a 2000 rpm durante 5 minutos se usa para:

1. Detectar bacterias: se encuentran en más del 90% de las infecciones que cursan con cifras bacterianas $\geq 100\ 000$ UFC/mL ⁽¹⁷⁾.
 2. Buscar leucocitos: Como límite normal se establece la presencia de 10 leucocitos/mm³. Así como la búsqueda de hematuria microscópica y detección de cilindros celulares ⁽¹⁷⁾.
 3. Confirmar presencia de células epiteliales: más de 20 células por campo con objetivo de alto poder (100X) sugiere contaminación ⁽¹⁷⁾.
- **Urocultivo:** se realiza para cuantificar el número de bacterias por mL y se expresa como UFC/mL, cada UFC en el cultivo representa una bacteria viable en la muestra. La técnica de cultivo más utilizada es la siembra con asa calibrada, que permite depositar un volumen determinado de orina sobre la superficie del medio de cultivo. Tales asas son de 0.001 ó 0.01mL, de forma que puede cuantificar bacteriurias entre 100- 1000 UFC/mL y más de 100 000 UFC/mL. Actualmente se utilizan asas calibradas de plástico que también obtienen un volumen fijo de muestra ⁽²⁴⁻²⁶⁾.

Tradicionalmente se han recomendado el empleo de dos medios de cultivo: uno selectivo y diferencial, como el agar McConkey o eosina azul de metileno (EMB), que permiten el crecimiento de enterobacteriaceae y bacilos gramnegativos no fermentadores, y un medio de agar sangre para grampositivos y levaduras. Resulta práctico utilizar la mitad del medio de cultivo para recuento cuantitativo y la otra mitad para aislamiento, lo que permite comprobar si el cultivo es polimicrobiano y efectuar pruebas de identificación y sensibilidad a partir de las colonias aisladas ⁽²⁵⁻²⁷⁾.

La identificación bioquímica del grupo *E. coli* por Sistema PhenePlate (PhP)

La caracterización bioquímica en biotipos para diferenciar cepas en función de la capacidad de fermentar un determinado número de carbohidratos (manitol, trealosa, lactosa, ramnosa, sorbitol), o degradar determinados aminoácidos (lisina, ornitina, arginina u otros) que ponen de manifiesto ante la presencia de determinadas enzimas como la β -D-glucuronidasa ⁽²⁸⁾. Relacionado con este tipo de clasificación en biotipos, se han descrito numerosos sistemas automatizados que resultan rápidos y sencillos de realizar. Una variante de este sistema es la técnica de fenotipado bioquímico conocida como PhenePlate System (PhPlate–<http://www.phplate.se>), que se basa en la clasificación de diferentes aislamientos (grupos fenotípicos, clones) bacterianos en función de la capacidad y cinética de degradación de los diferentes substratos analizados ⁽²⁹⁻³¹⁾. Es un sistema automatizado para subtipificación de bacterias, que ha permitido diferenciar grupos poblacionales de bacterias en diferentes partes del mundo, así como dar seguimientos a rutas potenciales de infecciones ⁽²⁹⁻³¹⁾. Con este sistema es fácil determinar el esparcimiento de cepas bacterianas patógenas en una población, así como realizar investigación en donde se requiere involucrar grandes números de aislados ⁽³²⁻³³⁾.

Resultando ser un método útil en estudios epidemiológicos, que en combinaciones con otros métodos; por ejemplo en Técnicas moleculares, se ve incrementado la caracterización y tipificación de grupos bacterianos con potencial patogénico ⁽³²⁻³³⁾. Además, este sistema permite desarrollar investigaciones ecológicas donde la población completa de bacterias es caracterizada, encontrando la diversidad en cada población y la similitud entre diferentes poblaciones ⁽³¹⁾.

6.2 ANTIBIOTICOS B-LACTÁMICOS PARA ENTEROBACTERIAS

Los β -lactámicos son la familia de antibióticos mayormente empleada en el tratamiento de las enfermedades causadas por enterobacterias. Estos fueron descubiertos en 1928 cuando Fleming encontró un hongo del género *penicillium* que producía una sustancia,

(posteriormente denominada penicilina) capaz de inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*; más tarde en 1948, Botzu obtuvo a partir del hongo *Cephalosporium acremonium*, material activo frente a *S. aureus* iniciando con esto el surgimiento de las cefalosporinas ⁽³⁴⁾. Se ha empleado una gran variedad de antibióticos β -lactámicos naturales y derivados semisintéticos para el control de enfermedades infecciosas. Estas moléculas representan más de la mitad del consumo total de los antibióticos, principalmente por su alta efectividad y baja toxicidad para los humanos y los animales. El objetivo de los antibióticos β -lactámicos es interferir en la síntesis de peptidoglicano (componente de la pared bacteriana) ⁽³⁵⁾.

Penicilinas: son un grupo de antibióticos de origen natural y semisintéticos que contienen el núcleo de ácido 6-aminopenicilánico que consiste en un anillo β -lactámico unido a un anillo tiazolidínico. Las penicilinas difieren unas de otras por sustituciones en la posición 6 del anillo donde cambios en la cadena lateral pueden inducir modificaciones en la actividad antibacteriana ⁽³⁴⁾.

Inhibidores de β -lactamasas: conservan en su estructura el anillo β -lactámico. En el ácido clavulánico, el anillo tiazolidínico de las penicilinas es sustituido por un anillo oxazolidínico; el sulbactam es la 6-desaminopenicilinasulfona y el tazobactam es la sulfona del ácido penicilánico. Ambos compuestos carecen de actividad antibacteriana propia, pero al inhibir competitivamente las β -lactamasas de diferentes especies bacterianas, potencian la actividad de penicilinas y cefalosporinas ⁽³⁴⁾.

Otros β -lactámicos: los monobactámicos se caracterizan por la presencia de un anillo β -lactámicos monocíclico, al cual se unen diferentes radicales que confieren al aztreonam una elevada resistencia a la inactivación por β -lactamasas de bacterias Gramnegativas (enterobacterias, *Pseudomonas* y otras bacterias Gramnegativas aerobias). En el caso de los carbapenems, el azufre endocíclico es sustituido por un grupo metileno, quedando el átomo de azufre en posición adyacente al anillo bicíclico ⁽³⁴⁾.

Cefalosporinas: contienen un núcleo constituido por ácido 7-aminocefalosporánico formado por un anillo β -lactámico unido a un anillo de dihidrotiazida. Sustituciones en las posiciones 3 y 7 modifican su actividad antibacteriana y propiedades farmacológicas. Clínicamente las cefalosporinas se han dividido en compuestos de primera, segunda, tercera y cuarta generación ⁽³⁴⁾.

Las cefalosporinas de primera generación son muy activas frente a cocos Grampositivos (*S. aureus*, *S. pyogenes* y *S. pneumoniae*) y tienen actividad limitada contra la *E. coli*, *P. mirabilis* (indol negativo) y *K. pneumoniae* ⁽³⁶⁾. Las cefalosporinas de segunda generación deben ser considerados en dos grupos: cefalosporinas y cefamicinas (cefotaxima, cefotetán, y cefmetazol). En comparación con los de primera generación las cefalosporinas de este grupo incluyen una gama de antibióticos parenterales y orales, que proporcionan significativa mejora en la actividad frente a *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae*, comparable a la actividad contra estafilococos y estreptococos y en determinados casos contra algunas enterobacterias. Cepas productoras de BLEE parecen sensibles *in vitro* a cefamicinas, pero estos agentes no han demostrado su fiabilidad cuando se utilizan para el tratamiento *in vivo* ⁽³⁷⁾.

Las cefalosporinas de tercera generación son activas contra bacilos Gramnegativos facultativos. Además, tienen una potente actividad antimicrobiana frente al *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, y otros estreptococos. También, tienen una excelente actividad frente a *H.influenzae*, *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, y *M. catarrhalis*. A pesar de su amplia utilización, estos agentes han conservado un grado alto de actividad contra *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *P. mirabilis* (indol positivo), *Proteus spp.*, *Providencia spp.* y *Serratia spp.* La actividad de estos agentes contra las enterobacterias se ha cuestionado recientemente por la resistencia mediada por β -lactamasas. Las β -lactamasas codificadas cromosómicamente de tipo AmpC, que son inducibles o que pueden ser reprimidas de forma estable y transfieren resistencia a todas las cefalosporinas, han dado lugar a un número de infecciones por *Enterobacter spp.* y *C. freundii*. Además, las BLEE mediadas por plásmidos, que transfieren

resistencia a cefalosporinas de tercera generación tienen como consecuencia mutaciones puntuales en los genes TEM o SHV ⁽³⁷⁾.

En las cefalosporinas de cuarta generación encontramos dos compuestos cefepime y ceftirome. Puesto que son compuestos eléctricamente neutros les es posible cruzar rápidamente la membrana externa de bacterias Gramnegativas y alcanzar una significativa concentración en el espacio periplásmico. Esta característica combinada con su relativa resistencia a la hidrólisis por β -lactamasas tipo AmpC y alta afinidad por PBP de bacilos Gramnegativos denota a estos compuestos con actividad específica contra las enterobacterias y *P. aeruginosa*, así como *H. influenzae* y *Neisseria spp.* Cefepime y ceftirome son inductores débiles de β -lactamasas tipo AmpC y seleccionan de manera estable a enterobacterias derreprimidas con menos frecuencia que las cefalosporinas de tercera generación, característica que puede proteger contra la aparición de resistencia entre los bacilos Gramnegativos ⁽³⁷⁾.

6.3 MECANISMO DE RESISTENCIA DE GRAM NEGATIVAS

Teniendo en cuenta que las bacterias Gramnegativas tienen un arsenal de mecanismos de resistencia a su disposición y que la selección de estos mecanismos pueda llevar a falla terapéutica, es importante conocer los mecanismos de resistencia más prevalentes en estas bacterias ⁽³⁸⁾. Estos mecanismos de resistencia son:

- **Modificación enzimática del antibiótico:** las bacterias expresan enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que éste pierda su funcionalidad. Las β -lactamasas son las más prevalentes, de igual forma las enzimas modificadoras de los aminoglucósidos son capaces de modificar estos antibióticos mediante reacciones de acetilación, adenilación y fosforilación. Además presenta la enzima cloranfenicol acetil transferasa que modifica al cloranfenicol para inactivarlo ⁽³⁸⁾.

➤ **Alteración de los blancos**

- **Las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs):** éstas pueden ser alteradas mediante mutación de manera que los β - lactámicos no puedan unirse a ellas, por lo tanto es resistente a agentes antimicrobinos ⁽³⁹⁾.
- **Ribosomas:** la metilación del ARN ribosómico confiere resistencia a los macrólidos ⁽³⁹⁾.
- **ADN girasa y topoisomerasa IV:** mutaciones en los genes cromosómicos de ADN girasa y topoisomerasa IV confieren resistencia a las quinolonas ⁽³⁹⁾.
- **Bombas de expulsión:** operan tomando el antibiótico del espacio periplásmico y expulsándolo al exterior, con lo cual evitan que llegue a su sitio de acción ⁽³⁸⁾.
- **Alteración de Rutas Metabólicas:** algunos microorganismos desarrollan una ruta metabólica alterada que elude la reacción inhibida por el antimicrobiano. Mutaciones que inactivan la timidilato sintetasa bloquean la conversión de deoxiuridilato a timidilato. Estos mutantes requieren timina o timidina exógena para la síntesis de ADN y por ende son resistentes a los antagonistas de la ruta del folato como las sulfonamidas y trimetoprima ⁽³⁹⁾.
- **Cambios en la permeabilidad de la membrana externa:** las porinas son proteínas que forman canales llenos de agua embebidos en la membrana externa que regulan la entrada de algunos elementos, entre ellos, los antibióticos. Los cambios en su conformación pueden llevar a que la membrana externa no permita el paso de estos agentes al espacio periplásmico ⁽³⁸⁾.

6.3.1 Mecanismo de resistencia bacteriana en *E. coli*

Las infecciones asociadas a bacilos Gramnegativos productores de BLEE constituyen un serio problema por su elevada mortalidad y altos costos. El problema es mayor debido a que los megaplásmidos que contienen los genes que codifican estas enzimas suelen acompañarse de otros que codifican resistencia a antimicrobianos no β -lactámicos como aminoglucósidos y quinolonas ⁽⁴⁰⁾.

Las BLEE hidrolizan los antimicrobianos β -lactámicos y por lo tanto, confieren resistencia a penicilinas, cefalosporinas (primera, segunda, tercera y cuarta generación) y monobactames. Dada su particular estructura química, algunos de estos β -lactámicos son resistentes a la hidrólisis como por ejemplo a las cefamicinas (cefoxitina, cefotetan y otros) y carbapenems (imipenem, meropenem y otros) ⁽⁴⁰⁾.

En la actualidad, la presencia de una BLEE en cualquier microorganismo debe informarse como resistente a penicilinas, monobactames y todas las cefalosporinas de tercera y cuarta generación independientemente de su sensibilidad in vitro ⁽⁴⁰⁾.

6.4 MÉTODOS FENOTÍPICOS DE DETECCIÓN DE BLEE

Método de tamizaje para detección de β -lactamasas de espectro extendido según el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI)

Se puede realizar por el método de disco difusión en agar Mueller Hinton (Britania) mediante la técnica de Baüer y Kirby, usando discos de susceptibilidad antimicrobiana (Oxoid) de Aztreonam (30 μ g), Cefotaxima (30 μ g), Ceftazidima (30 μ g) y Ceftriaxona (30 μ g); se utilizan como criterios de sospecha los diámetros: Aztreonam \leq 27 mm; Cefotaxima \leq 27 mm; Ceftazidima \leq 22 mm; y Ceftriaxona \leq 25 mm. Se considera sospechoso de BLEE cuando la cepa presenta halos de inhibición iguales o inferiores a los diámetros referidos, para al menos uno de los antibióticos. Las cepas sospechosas deben ser sometidas a las pruebas confirmatorias ⁽⁴⁰⁾.

Test confirmatorio BLEE - CLSI (método americano).

Las placas de agar Mueller Hinton son inoculadas con las cepas sospechosas, para ello se deben seguir las recomendaciones del CLSI, colocándose discos de susceptibilidad antimicrobiana (Britania) de ceftazidima (30 μ g), ceftazidima/ácido clavulánico (30/10 μ g), Ceftriaxona (30 μ g), cefotaxima/ácido clavulánico (30/10 μ g). Una diferencia mayor o igual a 5 mm en los halos de inhibición entre los discos de

ceftazidima/ácido clavulánico solos o cefotaxima/ácido clavulánico es interpretada como resultado positivo (figura 1) ⁽⁴⁰⁾.

Test confirmatorio BLEE - Método de Jarlier (Método de Inducción de Disco).

Las placas de agar Mueller Hinton deben ser inoculadas con las cepas sospechosas, con una turbidez equivalente al tubo N° 0,5 de la escala de Mc Farland. Se coloca un disco de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg) en el centro de una placa de Petri con agar Mueller Hinton y alrededor, a 25 mm de distancia, discos de ceftazidima (30 µg/ dL), cefotaxima (30 µg) y cefepime (30 µg). De manera opcional se analizan los discos de cefepime (30 µg) o ceftriaxona (30 µg). La presencia de BLEE se manifiesta por el efecto sinérgico del inhibidor y los discos (efecto de huevo, cola de pez o balón de futbol Americano) (figura 2) ⁽⁴⁰⁾.

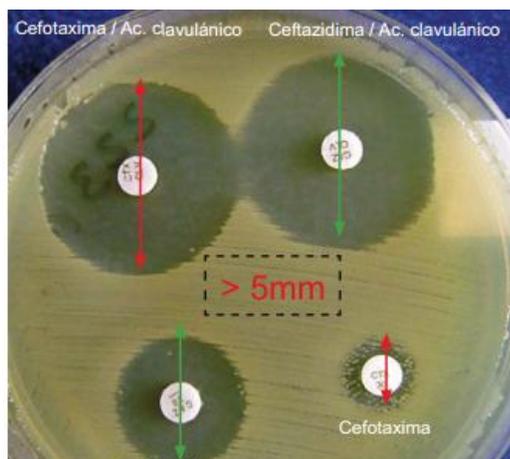


Figura 1. Prueba de disco combinado para la detección de BLEE ⁽⁴⁰⁾

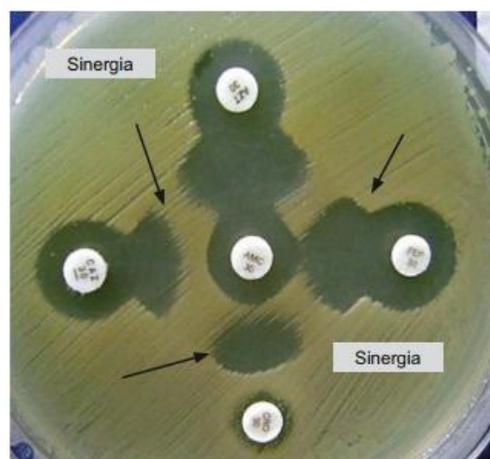


Figura 2. Método del doble disco para la detección de BLEE ⁽⁴⁰⁾

Método de Hodge para la determinación de BLEE

Se debe realizar una suspensión de la cepa de *E. coli*, con turbidez equivalente al tubo N.º 0.5 de la escala de Mac Farland, esta suspensión se inocula en una placa de agar Mueller Hinton. Se utiliza una placa por cada disco (cefotaxima, ceftriaxona, aztreonam, cefepime, ceftazidima) que son los sustratos a identificar. Se debe realizar

una estría de 2 cm de la cepa a investigar, desde el centro hacia afuera del disco. La presencia de la enzima se identifica al observar una deformación del halo de inhibición de la cepa de *E. coli* al disco con el sustrato en forma de hendidura (figura 3A) ⁽⁴⁰⁾.

Método tridimensional para la determinación de BLEE

Realizar una suspensión de la cepa de *E. coli* con turbidez equivalente al tubo N.º 0.5 de la escala de Mac Farland, esta suspensión se inocula en una placa de agar Mueller Hinton, se coloca al centro de la placa Petri los discos conteniendo los sustratos por identificar (cefotaxima, ceftriaxona, aztreonam, cefepime, ceftazidima), se realiza un surco perpendicular al disco, en el extremo final se realiza un orificio de 2 mm en la cual se inoculará 20 µL de la cepa problema de una suspensión equivalente al tubo 4 de la escala Mac Farland. La presencia de la enzima se identificará al observar una hendidura en el halo de inhibición, producto del crecimiento de la cepa indicadora de *E. coli* hacia el disco empleado como sustrato (figura 3B) ⁽⁴⁰⁾.

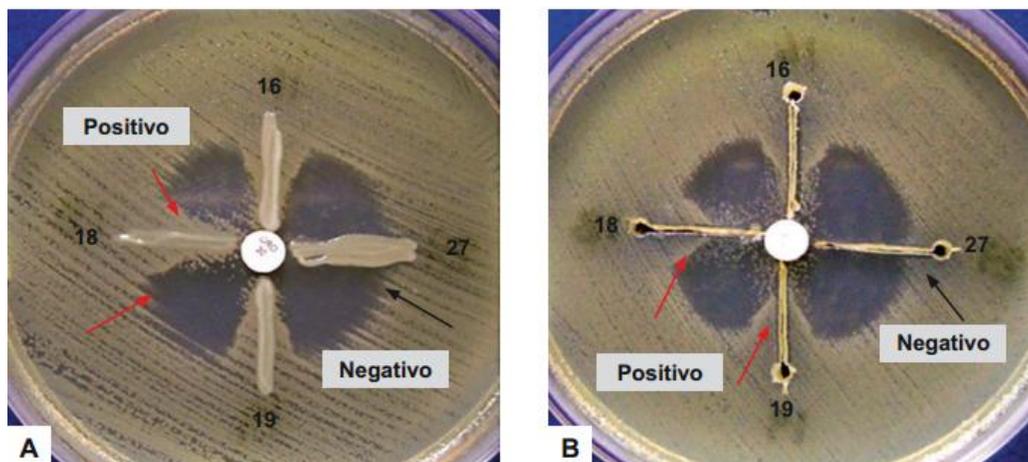


Figura 3A. Método de Hodge para la determinación de BLEE ⁽⁴⁰⁾

Figura 3B. Método tridimensional para la determinación de BLEE ⁽⁴⁰⁾

7 MATERIAL Y MÉTODO

7.1 TIPO Y ÁREA DE ESTUDIO

Estudio descriptivo de corte transversal, el cual tuvo como escenario el servicio de Emergencia de Medicina Interna del HEODRA, realizándose durante el período de Febrero 2015 - Agosto 2016.

7.2 POBLACIÓN

La población de estudio estuvo conformada por todos los/las pacientes que acudieron al servicio de Emergencia de Medicina Interna del HEODRA durante el período de estudio Febrero 2015 – Agosto 2016.

7.3 MUESTRA Y MUESTREO

Para este estudio, fueron considerados un total de 222 muestras de pacientes con presunción diagnóstica de ITU, a las que se les realizó urocultivo, de los cuales 108 mostraron crecimiento bacteriano. Considerando solamente de este último grupo un total de 74 muestras con aislados de *Escherichia coli* que fueron analizadas como parte esencial de nuestro estudio. El muestreo fue por conveniencia, no probabilístico y no estratificado.

7.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Urocultivos con crecimiento bacteriano de especie de *E. coli* en un número \geq a 10^5 UFC/ml.

7.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Urocultivos con crecimiento bacteriano de especie que no sea *E. coli* en un número \geq a 10^5 UFC/ml.

7.6 FUENTE DE INFORMACIÓN

- Resultados de laboratorio: urocultivo, antibiograma, test BLEE y fenotipificación.

7.7 FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Esta ficha estuvo diseñada con preguntas en las cuales se contemplaron los datos socio-demográficos relevantes (edad, sexo, procedencia, escolaridad y estado civil), manifestaciones clínicas, evolución de la ITU, clasificación y factores de riesgo. Se identificaron los casos positivos para ITU mediante datos de laboratorio (examen general de orina, urocultivo, antibiograma y producción de BLEE). Los acápite contemplados en esta ficha son del proyecto Vigilancia de los patrones de resistencia antimicrobiana en uropatógenos aislados de pacientes que acudieron a la emergencia de los servicios de Medicina Interna, Gineco-obstetricia y Pediatría del HEODRA Febrero 2015 -2016, de la cual únicamente se tomaron los datos de interés para este estudio como el microorganismo aislado, antibiograma y producción de BLEE del mismo (ver anexo 1).

7.8 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Previo al análisis de interés, se obtuvieron muestras de orina de los pacientes de emergencia del servicio de medicina interna con sintomatología de ITU, se enviaron al Laboratorio del HEODRA, donde se les realizó la búsqueda de nitritos y/o leucocitos con cinta reactiva, y a las que resultaron positivas se les realizó urocultivo. Un volumen de 1µl de cada una de las muestras incluidas para el análisis se inocularon en Agar sangre, MacConkey y/o CLED agar seguido de incubación a 37°C durante 18-24h, con el fin de obtener aislados de colonias puras; cabe destacar que cada muestra fue enumerada. Posteriormente a este proceso, todas las muestras con crecimiento bacteriano, fueron adecuadamente transportadas al laboratorio de Microbiología de la UNAN- León, en donde se le realizó a los aislados positivos para *E. coli*, la

identificación de su susceptibilidad, test BLEE, patrones de resistencia antibacteriana y fenotipificación.

➤ **Ensayos para la determinación de susceptibilidad antibiótica**

Las pruebas de susceptibilidad fueron realizadas mediante el método de Kirby-Bauer, utilizando sensidiscos, de acuerdo a las recomendaciones (criterios) del Instituto de Estándares Clínico y de Laboratorio ⁽⁴²⁾. Se considerarán para la evaluación los siguientes antibióticos: Amoxicilina (AML) 20µg, Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) 20/10µg, Nitrofurantoína (NIT) 300µg, Ciprofloxacina (CIP) 5µg, Gentamicina (GEN) 10µg, Kanamicina 30µg (K), Ceftriaxona (CRO) 30µg, Imipenem (IMP) 10µg, Meropenem 10µg (MER), Ceftazidima 30µg (CAZ), Cefepime 30µg (FEP) y Trimetroprin sulfametoxazol (SXT) 1.25/23.75µg

➤ **Test confirmatorio BLEE-Método de Jarlier (Método de Inducción de Disco)**

Este método consiste en realizar cultivo en placas de agar Mueller Hinton con las cepas sospechosas, con una turbidez equivalente al tubo N° 0,5 de la escala de Mc Farland. Posteriormente se colocan unidades de disco de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg) en el centro de una placa de Petri con agar Mueller Hinton y alrededor, a 25 mm de distancia, discos de ceftazidima (30 µg/ dL), cefotaxima (30 µg) y cefepime (30 µg). De manera opcional se analizan los discos de cefepime (30 µg) o ceftriaxona (30 µg). La prueba se considera positiva para BLEE si se manifiesta un efecto sinérgico del inhibidor y los discos (efecto de huevo, cola de pez o balón de futbol Americano) (ver figura 2 en marco teórico) ⁽⁴⁰⁾.

➤ **Tipificación de aislados de *E.coli* utilizando el sistema PhenePlate**

Las colonias aisladas de *E. coli* fueron caracterizadas fenotípicamente utilizando microplacas PhP-RE del sistema *PhenePlate* (<http://www.phplate.se>), las cuales están diseñadas de manera específica para el fenotipado bioquímico de cepas *E. coli*. Este sistema (PhP-RE) consiste en unidades de microplacas que contenían 96 pocillos con

11 reactivos deshidratado (figura 4), puestos en paralelo en un total de ocho filas y que permitieron un alto nivel de discriminación bioquímico entre los aislados de *E. coli*.⁽⁴¹⁾

Procedimiento del método

1. Se preparó el medio de suspensión conteniendo 0.1% de peptona, 0.0016M de buffer fosfatado y 0.011% de azul de bromotimol (Manual *PhenePlate*; <http://www.phplate.se>).
2. Se dispensó 350 µl del medio en la primera columna (pozos de inoculación) y 150µl en el resto de los otros pocillos del plato (columnas 2-12, con reactivos; Figura 4).
3. Inoculación de colonias bacterianas (seleccionadas aleatoriamente una colonia para cada pocillo) en la primera columna de cada microplaca.
4. Transferencia de 15µl de la suspensión bacteriana de la primera columna a las columnas conteniendo los reactivos de prueba (columnas 2-12); Posteriormente, todas las microplacas serán colocadas en cámara húmeda (utilizaremos contenedor plástico con tapa y papel toalla humedecida) e incubadas a temperatura de 37°C.
5. Realización de las mediciones colorimétrica de las reacciones bioquímicas generadas por cada aislado bacteriano, durante el período de incubación (16, 40 y 64 horas). Utilizando un Escáner (HP-Scanjet 4389), para capturar imágenes, que fueron convertidas a datos numéricos, utilizando un sistema automatizado de computación (PhPWin- Software versión 6.0; <http://www.phplate.se>).
6. Análisis de datos (lecturas obtenidas de cada aislado bacteriano), se agruparon a los aislados de *E. coli* con un coeficiente de similitud superior o igual a 0,975 dentro de grupo fenotípico específico. Los aislados que mostraron iguales patrones bioquímicos se les asignó el nombre de Fenotipos Comunes (FBc) y a los que no presentaron similitudes con ninguno de los aislados se denominaron Singles o no comunes (FBsi).

7.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS

La información presentada en este estudio forma parte de datos preliminares de la ejecución del proyecto titulado Vigilancia de los patrones de resistencia antimicrobiana en uropatógenos aislados de pacientes que acudieron a la emergencia de los servicios de Medicina Interna, Gineco-obstetricia y Pediatría del HEODRA Febrero 2015 – 2016, el cual fue aprobado por el Comité de Ética para las Investigaciones Biomédicas (CEIB) de la Facultad de Ciencias Médicas, con Acta No.1. Para la participación en este estudio se les explicó de manera verbal a los pacientes en qué consiste este proyecto y a la vez se le pidió su aprobación y deseo o no de participar en el mismo, por lo que posteriormente se le realizó el llenado de una ficha de recolección de datos y toma de muestra biológica (orina). (Ver anexo 1 y 2).

La captación de los pacientes con presunción diagnóstica de ITU, llenado de la ficha de recolección de datos, toma de la muestra de orina y transporte de las mismas al Laboratorio del Departamento de Microbiología de la UNAN-León fue realizado en conjunto con otro miembro de investigación del proyecto.

Una vez obtenidos los resultados del urocultivo, estos fueron entregados personalmente a cada uno de los participantes y de ser positivo recibieron orientaciones con respecto a la conducta médica a seguir. Cabe destacar que el proyecto garantizó la confidencialidad de cada uno de los datos, nombre y resultados que se obtuvieron del paciente mediante codificación de la muestra. Todos los materiales, documentación y muestras biológicas, se mantuvieron en un lugar seguro con acceso restringido.

En este estudio únicamente se informan datos microbiológicos que fueron obtenidos a través de este proyecto. Este trabajo fue apoyado, al igual que lo está siendo el proyecto, por el departamento de Microbiología de la UNAN-León y el Centro de Enfermedades Infecciosas (CEI).

7.10 ANÁLISIS DE DATOS

Se realizaron tablas de valores absolutos y relativos correspondiente a la susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de *E.coli*. Posteriormente se realizó la frecuencia de aislados productores de BLEE y patrón de resistencia. Con los datos del sistema *PhenePlate* (PhPWin Software, WHONET versión 5.6, y Excel para Windows) que identifica los fenotipos bioquímicos de *E. coli*, se agruparon los aislados en grupos fenotípicos bioquímicos comunes y no comunes, los cuales se presentan en gráfico dendrograma.

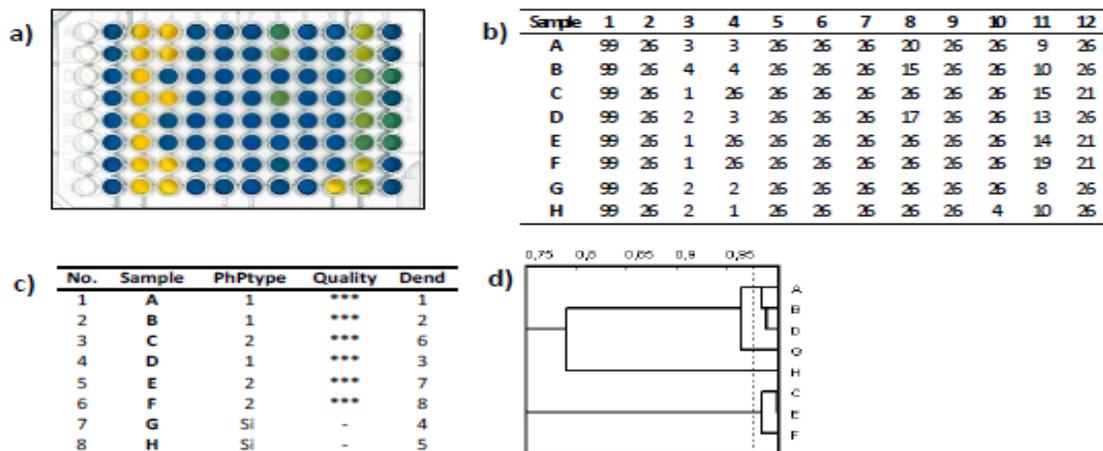


Figura 4. Ejemplo de la tipificación con el sistema PhP, reacciones e imágenes al análisis: **a)** Reacciones de ocho aislados bacterianos ante once reactivos (columnas 2-12) en microplacas PhP-RE; **b)** Cuantificación de las reacciones que representan el patrón bioquímico de cada aislado ensayado (A-H). Contenido de los pocillos (columnas 1-12, en su orden respectivo): pocillo de inoculación, Celobiosa, Lactosa, Rhamnosa, Deoxyribosa, Sucrosa, Sorbosa, Tagarosa, D-Arabitol, Raffinosa, Gal-Lactona, Ornithina; **c)** Lista de fenotipos obtenidos (PhP); **d)** Representación grafica (Dendrograma) de los aislados A-H de cada muestra. Adaptado de Reyes, D⁽⁴¹⁾.

7.11 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Categorías
Prueba de susceptibilidad	Prueba que mide a través del método Kirby Bauer (de acuerdo a criterios del CLSI) ⁽⁴²⁾ la sensibilidad o resistencia a 1 o más antibióticos de una cepa bacteriana que se sospecha es la responsable de una infección.	1- Resistente 2- Intermedio 3- Sensible
BLEE	Enzimas que hidrolizan a los antimicrobianos β -lactámicos lo que le confiere a la <i>E.coli</i> resistencia a penicilinas, cefalosporinas, monobactamen, carbapenems ⁽⁴⁰⁾ .	SI__ NO__
Patrón de Resistencia de aislados productores de BLEE	Perfil de multirresistencia (resistencia a tres o más familias de antibióticos) ⁽⁴³⁾ de aislados productores de BLEE.	Todas las posibles combinaciones de antibióticos con resistencia antimicrobiana.
Fenotipo Bioquímico de <i>E.coli</i>	Patrón bioquímico generado por cada aislado de <i>E.coli</i> al entrar en contacto con reactivos deshidratados ⁽⁴¹⁾ .	<ul style="list-style-type: none"> • Fenotipos comunes (FBc) • Fenotipos no comunes (FBsi)

8 RESULTADOS

Durante el periodo de Febrero 2015-Agosto 2016, fueron recolectadas y analizadas para urocultivo un total de 222 muestras obtenidas de la misma cantidad de pacientes, con presunción diagnóstica de ITU, que fueron atendidos en el servicio de emergencia de Medicina Interna del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello (HEODRA).

De acuerdo al análisis total de urocultivos realizados (n=222), se obtuvo crecimiento bacteriano en 48.6% (108/222) de las muestras; siendo la *Escherichia coli* (*E. coli*) el microorganismo con mayor frecuencia (68%) de aislamiento, seguido de *Enterobacter spp* (15%), *Acinetobacter spp* (7%), *Proteus mirabilis* (4%), *Klebsiella spp* (3%), *Citrobacter spp* (2%) y *Serratia spp* (1%) (Anexo, Gráfico 1).

Dado que nuestro estudio estaba enfocado a caracterizar aislados de *E. coli*, se les determinó la susceptibilidad antimicrobiana y producción de BLEE mediante el método de Kirby-Bauer. Así como la prueba de caracterización fenotípica utilizando el sistema PhenePlate (www.phplate.se).

En general se mostraron altas tasas de resistencia antimicrobiana para los antibióticos amoxicilina, kanamicina, trimetoprim/sulfametoxazol, ciprofloxacina, ceftriaxona, ceftazidima y cefepime, amoxicilina/ácido clavulánico. Y bajas tasas de resistencia antimicrobiana <20% para gentamicina, nitrofurantoína, meropenem e imipenem (Tabla 1).

Tabla 1. Frecuencia de susceptibilidad antimicrobiana en aislados de *E. coli* obtenidas de urocultivos (n= 74)

Antibiótico	Resistente n (%)	Intermedio n (%)	Sensible n (%)
Amoxicilina	65(87.8)		9(12.2)
Amoxicilina/ácido clavulánico	21(28.4)	7(9.5)	46(62.2)
Ciprofloxacina	35(47.3)	1(1.4)	38(51.4)
Trimetoprim sulfametoxazol	39(52.7)	1(1.4)	34(45.9)
Ceftriaxona	31(41.9)	1(1.4)	42(56.8)
Ceftaxidime	30(40.5)		44(59.5)
Cefepime	30(40.5)		44(59.5)
Kanamicina	47(63.5)	18(24.3)	9(12.2)
Gentamicina	8(10.8)	5(6.8)	61(82.4)
Nitrofurantoína	5(6.8)	4(5.4)	65(87.8)
Meropenem	5(6.8)	2(2.7)	67(90.5)
Imipenem	1(1.4)		73(98.6)

Se encontró que el 59% (n=44) de los aislados presentó multi-resistencia (tres o más familias de antibióticos) ⁽⁴³⁾. Se identificó que el 29.7% (n=22) de las *E. coli* compartían la producción de β lactamasas de espectro extendido (BLEE), siendo el indicador principal la resistencia a las cefalosporinas (ceftazidima, ceftriaxona y cefepime). De los cuales el patrón de resistencia que se observó con mayor frecuencia fue amoxicilina + ceftazidima+ ciprofloxacina + ceftriaxona + cefepime + kanamicina + trimetoprim/sulfametoxazol, seguido de amoxicilina + ceftazidima+ ciprofloxacina + ceftriaxona + cefepime + trimetoprim/sulfametoxazol (Tabla 2).

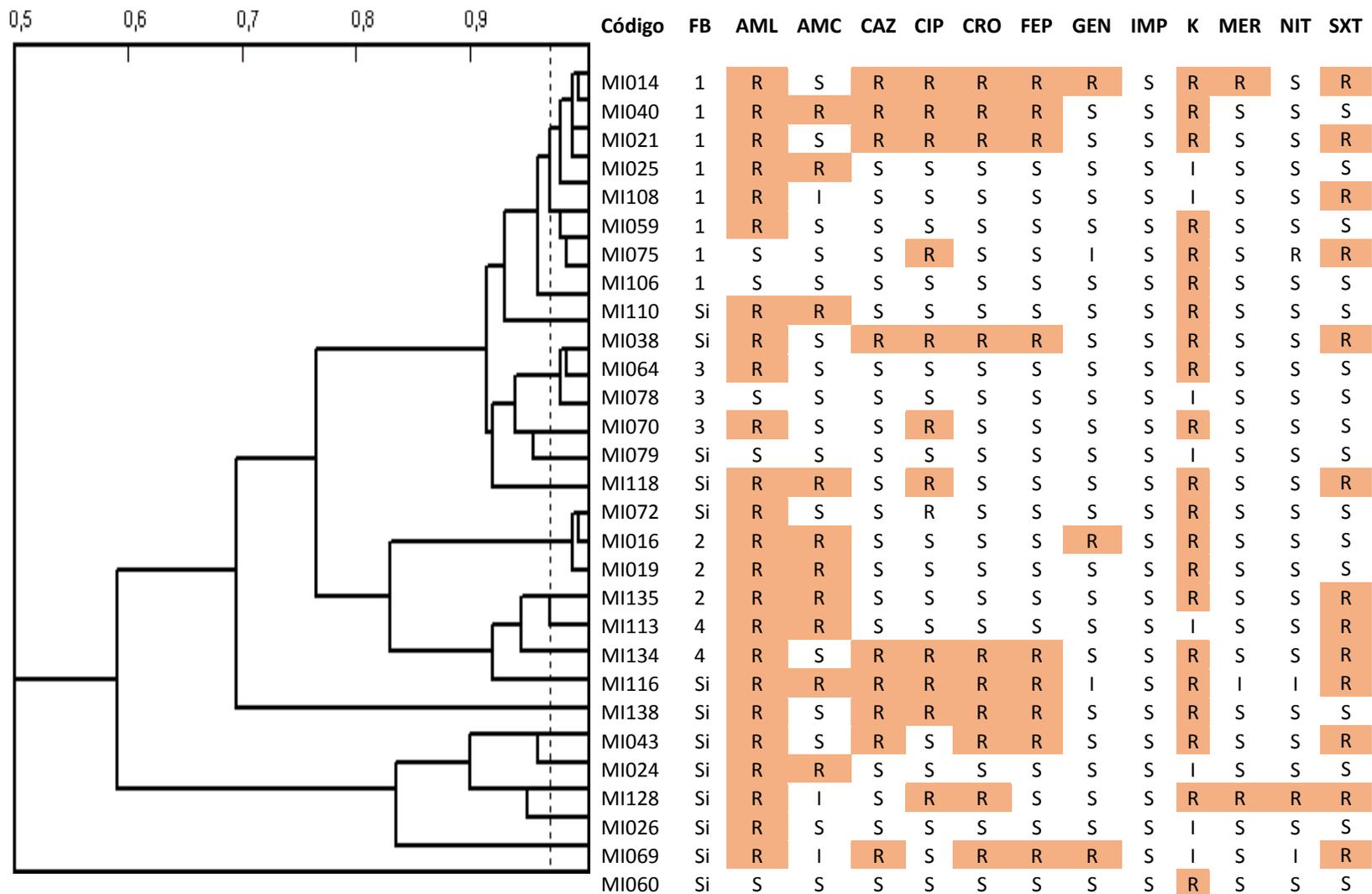
Tabla 2. Patrones de resistencia antimicrobiana en aislados de *E.coli* productoras de BLEE

Patrones de Resistencia	n=22	%
AML+CAZ+CRO+K+SXT	1	4.5
AML+CAZ+CRO+FEP+K+SXT	1	4.5
CAZ+CIP+CRO+FEP+K+SXT	1	4.5
AML+CAZ+CIP+CRO+FEP+K	1	4.5
CAZ+CIP+CRO+FEP+K+SXT	1	4.5
AML+CAZ+CIP+CRO+FEP+SXT	2	9
AML+CAZ+CRO+FEP+K+SXT+GEN	1	4.5
AML+CAZ+CIP+CRO+FEP+K+AMC	1	4.5
AML+CAZ+CIP+CRO+FEP+K+SXT	8	36.4
AML+CAZ+CIP+CRO+FEP+K+SXT+GEN	1	4.5
AML+CAZ+CIP+CRO+FEP+K+SXT+AMC	1	4.5
AML+CAZ+CIP+CRO+FEP+K+GEN+AMC	1	4.5
AML+CAZ+CIP+CRO+FEP+K+SXT+GEN+MER	1	4.5
AML+CAZ+CIP+CRO+FEP+K+SXT+GEN+AMC	1	4.5

AML Amoxicilina, **AMC** Amoxicilina/ácido clavulánico, **CAZ** Ceftaxidima, **CIP** Ciprofloxacina, **CRO** Ceftriaxone, **FEP** Cefepime, **GEN** Gentamicina, **IMP** Imipenem, **K** Kanamicina, **MER** Meropenem, **NIT** Nitrofurantoína, **SXT** Trimetoprim-sulfametoxazol.

Debido al material con que se contaba para la caracterización fenotípica se analizó un 39% (n=29) de los aislados de *E.coli*. Donde se pudo diferenciar un total de 17 fenotipos divididos en 4 fenotipos comunes (FBc1- 4) y 13 fenotipos no comunes (FBsi). Observándose un predominio en orden de frecuencia para los fenotipos FBc1 (8 aislados); FBc3 (3 aislados), FBc2 (3 aislados) y FBc4 (2 aislados) (Figura.5).

Figura 5. Distribución de Fenotipos Bioquímicos de aislados de *E.coli*, y patrones de resistencia antimicrobiana



La línea punteada vertical indica el nivel de identidad que fue determinado por la reproducibilidad del método (ID=0.975)

R, Resistente I, Intermedio S, Sensible. **AML** Amoxicilina, **AMC** Amoxicilina/ácido clavulánico, **CAZ** Ceftaxidima, **CIP** Ciprofloxacina, **CRO** Ceftriaxone, **FEP** Cefepime, **GEN** Gentamicina, **IMP** Imipenem, **K** Kanamicina, **MER** Meropenem, **NIT** Nitrofurantoína, **SXT** Trimetoprim-sulfametoxazol

9 DISCUSIÓN

Las ITUs son muy frecuentes en nuestro medio siendo su principal microorganismo causante *E.coli*, la cual ha venido adquiriendo con el paso del tiempo resistencia a diversos fármacos. En el adulto con ITU es habitual el tratamiento antibiótico empírico y solo en ocasiones se envía urocultivo. Sin embargo, se ha documentado la presencia de una mayor resistencia a los antibióticos usados habitualmente ⁽⁴⁴⁾. Conociendo de esta problemática en la población, el presente estudio brinda datos obtenidos entre Febrero 2015-Agosto 2016, tratando de aportar un análisis en la comprensión e interpretación de los mismos.

El análisis de los urocultivos identificó diferentes patógenos aislados, dentro de los cuales se encontró en orden de frecuencia *Escherichia coli*, *Enterobacter ssp*, *Acinetobacter ssp*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella ssp*, *Citrobacter ssp* y *Serratia ssp*. A pesar de la diferente población y tomando en consideración el tipo de muestra biológica se encontró ligera diferencia en lo reportado por Narváez. A., donde aisló *Pseudomona ssp* ⁽¹⁰⁾. Así como Bours, Matute y cols que además aislaron otros microorganismos como *Escherichia fergusonii*, *Cedecea davisae*, *Staphylococcus aureus* y *Kluyvera ssp* ⁽²⁾.

El presente trabajo estuvo dirigido al estudio de fenotipos bioquímicos y resistencia antimicrobiana de *E.coli*, ya que sigue siendo el principal microorganismo causante de ITU, lo que remarca la importancia del análisis de la misma. Esto es similar a lo reflejado en estudios realizados tanto en España ⁽¹³⁾ como Latinoamérica ^(45, 46) y a nivel nacional ^(33,34,41), particularmente en este centro asistencial ⁽²⁾ ha aumentado su frecuencia en un 20% probablemente esto se deba al uso inadecuado de antibióticos de empleo rutinario, los cuales actualmente tienen poca o nula efectividad, además relacionado a la transferencia de mecanismos de resistencia como la producción de BLEE y a una transmisión horizontal de esta bacteria en el medio comunitario ^(33,34,41).

La evolución de la resistencia de *E.coli* como uropatógeno ha sido vigilada frecuentemente en todos los países del mundo, con el objetivo de aplicar una terapia antibiótica empírica en la que los principales microorganismos causantes, en especial *E.coli*, sean sensibles ^(44,47-49). Este estudio al igual que los realizados en Latinoamérica demuestra altas tasas de resistencia de *E.coli* para los betalactámicos, aminoglucósidos y trimetoprim/sulfametoxazol ⁽⁵⁰⁾. Lo que es una situación preocupante, puesto que se observa con el paso del tiempo un aumento en la resistencia de estos grupos farmacológicos.

En el año 2010, Bours. P., Matute. A. y cols propusieron a amoxicilina/ácido clavulánico como tratamiento alternativo para ITU no complicada por la baja resistencia encontrada ⁽²⁾. Sin embargo, en este estudio se identificó un aumento en su resistencia, lo que dejaría a este fármaco fuera del esquema alternativo, debido a que no cumple con las directrices de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) que establecen una resistencia menor del 20% para ser utilizados como tratamiento ^(47,48).

En España, la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas propone a ciprofloxacina como tratamiento alternativo para pielonefritis aguda no complicada, siempre y cuando no hayan antecedentes previos de su uso y se reporten tasas de resistencias inferiores al 10% ⁽⁴⁹⁾ debido a la frecuencia de resistencia para dicho antibiótico en este país ⁽⁵¹⁻⁶¹⁾. En nuestro país este antibiótico sigue siendo utilizado como tratamiento de primera línea ⁽⁶²⁾ a pesar de que se conoce que la sensibilidad de *E. coli* para este fármaco ha disminuido a nivel nacional ^(2, 8, 63) y latinoamericano ^(45, 46, 50,64).

Con respecto a ceftriaxona, fármaco que es el más utilizado en la terapia para ITU alta en la práctica hospitalaria, se encontró duplicada su resistencia. En cambio gentamicina disminuyó su resistencia (10.8%), lo que la perfila como una mejor alternativa para el manejo intrahospitalario de una ITU alta, otras alternativas sería el uso de los carbapenemes que resultaron con resistencias inferiores al 90%, meropenem (6.8%) e imipenem (1.4%).

Concerniente a la producción de BLEE se obtuvo similitud a Bours. P., Matute. A., y cols en donde mostraron que el 29.5% (n=13) era positivas, a nivel internacional se reporta que en Chinpancingo, México el 21% (n=18) fueron productoras de BLEE ⁽⁴⁵⁾. Sin embargo, hay diferencia con un estudio realizado en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNAN-León ⁽⁶³⁾, donde reportaron que el 38% eran productoras de este mecanismo de resistencia. En el estudio realizado por Cabrera. C. y Franco. J., en pacientes del área de gineco-obstetricia de dos hospitales se reportó un menor porcentaje de producción de BLEE (20%) comparado al encontrado en este estudio ⁽⁹⁾.

El patrón de resistencia encontrado en *E. coli* productoras de BLEE fue amoxicilina + ceftazidima+ ciprofloxacina + ceftriaxona + cefepime + kanamicina + trimetoprim/sulfametoxazol. Esto corresponde a lo reportado a nivel local, ya que se evidencian patrones resistentes a cefalosporinas en combinación con trimetoprim/sulfametoxazol y ciprofloxacina, por el contrario no se agrega a este patrón kanamicina y amoxicilina ya que estos antibióticos no fueron incluidos en estos estudios ^(9-10,63). Cabe destacar, que a pesar de que la amoxicilina ya no se utiliza en nuestro medio se identificó que aun sigue teniendo elevada antibiótico resistencia.

La utilización del método *PhenePlate* para la caracterización fenotípica bioquímica ha sido utilizado por muchos investigadores lo que ha facilitado obtener un acercamiento en la búsqueda de cepas o aislados de importancia epidemiológica dado a la facilidad del estudio de un conglomerado de ellos en un sólo análisis. ^(9, 10, 33, 34, 41,63, 65,66)

En nuestro estudio se logró identificar 17 grupos fenotípicos de los cuales 4 eran grupos comunes y 13 fenotipos individuales, a diferencia de los hallazgos obtenidos por Cabrera C. y Franco. J., utilizando esta metodología donde agruparon 22 fenotipos comunes, así como Narváez. A., que agrupó 20 fenotipos comunes. Probablemente esté relacionado con la población, ya que sólo incluyeron pacientes de gineco-obstetricia y en el presente trabajo fueron adultos del servicio de medicina interna ^(9,10). Sin embargo, la relevancia de estos estudios se muestra en poder presenciar cepas que se distribuyen en diferentes grupos poblacionales, pudiendo considerarse un

proceso de distribución endémica de importancia epidemiológica. Demostrado porque dentro de estos grupos fenotípicos presentaron relación en cuanto a la agrupación de patrones de resistencia y producción de BLEE, lo cual hace pensar que hay circulación de ciertas cepas de *E.coli* que se han adaptado a los grupos de antibióticos utilizados comúnmente, marcando la transferencia de plásmidos que dan lugar a la adquisición de uno de los tantos mecanismos de resistencia como es la producción de BLEE.

10 CONCLUSIÓN

- En total se obtuvieron 74 (68%) aislados de *E. coli*, en dicha bacteria se observó resistencia antimicrobiana para amoxicilina, seguido de kanamicina, trimetoprim/sulfametoxazol, ciprofloxacina y ceftriaxona y sensibilidad principalmente a imipenem, meropenem, nitrofurantoína y gentamicina.
- Del total de *E. coli* identificadas un 29.7% (n=22) eran productoras de β Lactamasas de Espectro Extendido, de las cuales su principal patrón de resistencia fue amoxicilina + ceftazidima+ ciprofloxacina + ceftriaxona + cefepime + kanamicina + trimetoprim/sulfametoxazol.
- A pesar de que la muestra para el análisis de fenotipificación fue pequeña, se pudo encontrar la presencia de algunos grupos fenotípicos comunes que pueden tener relevancia epidemiológica por la posible circulación de dichos fenotipos a nivel comunitario e intrahospitalario. En total se identificaron 17 grupos fenotípicos bioquímicos de *E. coli*, distribuidos en 4 fenotipos comunes y 13 fenotipos no comunes.

11 RECOMENDACIONES

- Mantener la vigilancia de la susceptibilidad antimicrobiana de *E.coli*, por parte de las autoridades competentes con la posibilidad de unir esfuerzos en la búsqueda de cepas con potencial patogénico, para brindar un manejo farmacológico adecuado basado en evidencia microbiológica, ya que deberían de tomarse en cuenta las altas tasas de resistencia para los antibióticos orales de uso más frecuente.
- Comunicar a los profesionales de la salud (en especial médicos) los hallazgos encontrados en este estudio.
- Promover el uso racional de medicamentos, principalmente a nivel intrahospitalario y en pacientes con comorbilidades, debido a que actualmente los antibióticos de uso común son poco eficaces para la erradicación de esta bacteria y a la vez disminuir de esta manera la multiresistencia y se evite la transferencia de mecanismos de resistencia.
- Impulsar estudios de seguimiento para cepas uropatógenas y en especial *E.coli* con el método PhenePlate, dado a su alto grado de reproducibilidad y que a la vez permite la discriminación de dichas cepas (según sus características bioquímicas) que se distribuyen con mayor frecuencia en la población.
- Realizar estudios que determinen los factores de riesgo para el desarrollo de resistencia antibiótica a nivel local.

12 ANEXOS

Anexo 1. Ficha de recolección de datos

Encuesta N° ____.

Fecha: Hora: Teléfono:

Estimado Sr. Sra. Participante del presente estudio llamado: Vigilancia de los patrones de resistencia antimicrobiana en uropatógenos aislados de pacientes que acudieron a la emergencia de los servicios de Medicina Interna, Gineco-obstetricia y Pediatría del HEODRA Febrero 2015 - 2016, su colaboración será de gran ayuda al aportar al desarrollo científico de nuestra sociedad. Sus datos aquí proporcionados serán de total discreción.

Datos generales

1. Edad

13-20 31-40 41-50 >50 años

2. Sexo

Femenino Masculino

3. Procedencia

Urbano Rural

4. Escolaridad

Analfabeta Primaria Secundaria Técnico Universitario No aplica

5. Estado civil

Casado Acompañado Soltero Viudo No aplica

Manifestaciones clínicas:

ITU Baja:

Disuria Frecuencia Urgencia Sensación de pesantez pélvica Dolor suprapúbico a la palpación
Polaquiuria

ITU Alta:

Fiebre Dolor en el costado Puño percusión positivo Nauseas Vómitos

Tiempo de evolución de los síntomas

<72horas 4-7 días >7 días

La sintomatología urinaria es:

a) 1ra vez: Sí _____ No _____

b) Cuadros similares previos: Si _____ ¿Cuántos? No _____

Datos que posee para apoyar Infección urinaria previa:

a. Historia de síntomas similares: Si _____ No _____

b. General de orina con: Piuria Hematuria Nitritos

c. Urocultivo previo con recuento 10⁵UFC/ml: Si _____ No _____

Clasificación de las infecciones urinarias según gravedad

- No complicada
- Complicada (Ver categorización). Una o más:
 - Niños
 - Hombres
 - Mujeres con lesión conocido en el diagnóstico previo
 - Anomalía del tracto urinario funcional o estructural
 - Obstrucción por urolitiasis
 - Embarazo Edad gestacional _____
 - Diabetes
 - Lesión de la médula espinal
 - Trastorno neurológico (por ejemplo, esclerosis múltiple) que afecta la función de la vejiga
 - Sonda permanente
 - Las comorbilidades que predisponen a la necrosis papilar (por ejemplo, anemia de células falciformes, diabetes severa, abuso de analgésicos, la infección por *Pseudomonas spp*)
 - La infección con un organismo inusual

Cuáles factores de riesgo posee?

- Actividad sexual reciente (1 semana previa)
- Uso de diafragma, capuchón cervical o espermicidas
- Menopausia (no menstruaciones >1 año)
- Cistocele (anatómico)/ incontinencia de esfuerzo (historia)
- Historia personal de Diabetes Mellitus y en tratamiento
- Historia personal de enfermedad prostática
- Historia personal de urolitiasis
- Uso de antibióticos de amplio espectro (semana previa) ¿Cuál?
- Historia personal de enfermedad renal ¿Cuál?

Tratamiento empírico inicial: Sí _____ Esquema? No _____

Examen general de orina (EGO):

- Nitritos pH _____
- Leucocitos (≥ 10 por campo) Densidad _____
- Bacterias Cilindros _____
- Sangre _____

Urocultivo:

- Sí No

Agente Uropatógeno: _____

Bacilos gramnegativos:

- Escherichia coli* *Escherichia fergusonii* *Proteus* *Klebsiella*
 Enterobacter *Serratia* *Pseudomonas* *Cedecea davisae*

BLEE: Si: _____ No _____

Cocos grampositivos:

- Staphylococcus saprophyticus* *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis*

Susceptibilidad antimicrobiano

Antibiótico	SUSCEPTIBILIDAD		
	Resistente	Intermedio	Sensible
Amoxicilina			
Amoxicilina/ácido clavulánico			
Ceftaxidima			
Ciprofloxacina			
Ceftriaxone			
Cefepime			
Gentamicina			
Imipenem			
Kanamicina			
Meropenem			
Nitrofurantoina			
Trimetoprim/sulfametoxazol			

Anexo 2. Acta del Comité de ética para Investigaciones Biomédicas (CEIB)



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
Facultad de Ciencias Médicas
UNAN - León

Comité de Ética para Investigaciones Biomédicas (CEIB)
“Dr. Uriel Guevara Guerrero”
FWA00004523 / IRB00003342

León, 19 de febrero de 2015

ACTA No. 1

Dra. Idania Escalante Mendoza
Médico Residente de II Año de Medicina
Sus Manos

Estimada Doctora:

Hemos recibido su trabajo de Investigación titulado “**Vigilancia de los patrones de resistencia antimicrobiana en uropatógenos aislados de pacientes que acuden a la emergencia de los servicios de Medicina Interna, Gineco-Obstetricia y Pediatría del Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello, Febrero 2015-2016**”, para que sea evaluado por el Comité de ética, al respecto le comunicamos lo siguiente: *consideramos que este Protocolo cumple con las exigencias éticas nacionales e internacionales y que se ajusta a los principios de las buenas prácticas clínicas y a la declaración de HELSINKI, por lo que este Comité aprueba su continuidad.*

Como Comité de Ética, valoramos muy positivamente la importancia de este trabajo. Copia de esta carta debe estar presente en el Protocolo e informe final.

Sin otro particular, nos es grato suscribirnos.

Atentamente,



DRA NUBIA PACHECO SOLÍS
Presidenta del CEIB
Facultad de CC. MM.



COMITÉ DE ÉTICA PARA INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS
FUNDADO EN 1995
LEÓN, NICARAGUA
CEIB



DR. ORLANDO MORALES N.
Secretario del CEIB
Facultad de CC. MM.

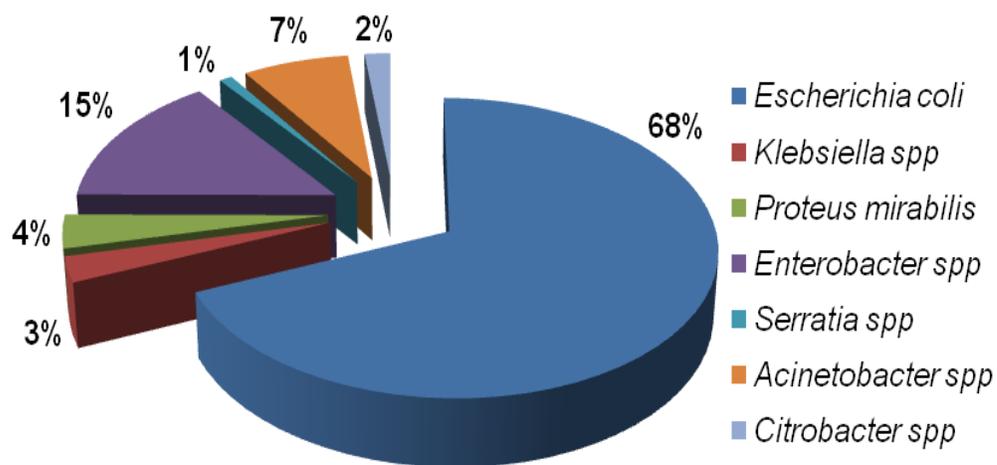
Cc: Archivo
NAPS/rhl

Por la Pertinencia y Excelencia Académica

Fundado en la Facultad de Ciencias Médicas UNAN - León Nicaragua 1995 comiteticauanaton@gmail.com Telf: 2311-4675

Expiration data 31/08/2015

Gráfico 1. Frecuencia de microorganismos aislados en urocultivos (n=108)



13 REFERENCIAS

1. Longo DL, Kasper DL, Jameson JL, Faucini AS, Hauser SL, Loscalzo J, Harrison principios de medicina interna. Volumen 1. 18^a edición. México: McGraw-Hill; 2012. Pág. 2387- 2395.
2. Bours P.H.A., Polak R., Hoepelman A.I.M., Delgado E., Jarquin A., Matute A.J.: Increasing resistance in community-acquired urinary tract infections in Latin America, five years after the implementation of national therapeutic guidelines. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN), León, Nicaragua. 2010
3. Olson RP, Harrell LJ y Keith S: Antibiotic Resistance in Urinary Isolates of Escherichia coli from College Women with Urinary Tract Infections. American Society for Microbiology. Antimicrobial agents and chemotherapy. Mar. 2009, p. 1285–1286 Vol. 53, No. 3.
4. Informe Anual Regional de los Países Participantes en la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia, 17-19 de abril, 2002. OPS/DPC/CD/246/03.
5. Informe Anual Regional de los Países Participantes en la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos. Buenos Aires, Argentina, 10-13 mayo, 2003. OPS/DPC/CD/284/03.
6. Informe Anual Regional de los Países Participantes en la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos. Lima, Perú, 29 junio -1 de julio, 2004. OPS/DPC/CD/332/05.
7. Informe Anual de la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos I 2010. San José, Costa Rica, 29-30 noviembre, 1 de diciembre, 2010. OPS/HSD/IR/AMR/003/1210.
8. Matute A.J., Hak E., Schurink C.A.M., McArthur A., Alonso E., Paniagua M., Van Asbeck E., Roskott A.M., Froeling F., Rozenberg-Arska M., Hoepelman I.M.: Resistance of uropathogens in symptomatic urinary tract infections in León, Nicaragua. Int J Antimicrob Agents. 2004 May; 23(5):506-9.

9. Cabrera C., Franco J. Fenotipos de *Escherichia coli* antibióticos resistentes aislados de pacientes embarazadas en dos centros Hospitalarios” Agosto – Diciembre 2012. Tesis para optar al título de Licenciatura en Bioanálisis Clínico UNAN-León. 2012
10. Narváez A. Patrones fenotípicos y resistencia antibacteriana en aislados de *Escherichia coli* en Pacientes Embarazadas con Infección Urinaria atendidas en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello León, Agosto 2012 – Septiembre 2014. Tesis para optar al título de especialista en gineco obstetricia. 2015
11. Den Engelsen C, Van der Werf, Matute A.J, Delgado E, Schurink C, Hoepelman A.I.M et al. Infectious diseases and the use of antibiotics in outpatients at the emergency department of the University Hospital of León, Nicaragua, Int J Infect Dis (2008), doi:10.1016/j.ijid.2008.07.010, Pags: 349-354.
12. Alonso S, Mercedes y Abad Bécquer, M. Isabel. Fenotipos de resistencia en aislamientos urinarios de *Escherichia coli* en la comunidad: implicaciones terapéuticas. *Laboratorio de Análisis Clínicos. Departamento de Microbiología. CEP. Carabanchel. Área 11. Madrid. España. Med Clin (Barc)* 2003;120(10):361-4
13. Pérez N., Pavas N., Rodríguez E. Resistencia a los antibióticos en *Escherichia coli* con beta-lactamasas de espectro extendido en un hospital de la Orinoquia colombiana Hospital Departamental de Villavicencio, Grupo de Investigación, Universidad Cooperativa de Colombia, Villavicencio, Colombia. *Infect.* vol.15 no.3 Bogotá July/Sept. 2011.
14. Ramírez R: Microbiología de las infecciones de vías urinarias y respuesta a antibióticos en la población de Jayaque durante Junio – Octubre 2004. Tesis Doctoral para optar al Título de Doctor en Medicina U. J. M. D. Biblioteca La Libertad, El Salvador, febrero 2005.
15. Karlowsky, J.A., Kelly, L.J., Thornsberry, C., Jones, M.E., Sahm, D.F. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *E. coli* from female outpatients in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2540-2545
16. Gupta, K., Sahm, D.F., Mayfield, D., Stamm, W.E. Antimicrobial resistance among uropathogen that cause community-acquired urinary tract infections in women: A nationwide analysis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 89-94.

17. Matamara M., Llanio R., Muñiz P., Quintana C., Peña V., Diagnóstico y tratamiento. La Habana. Editorial Ciencias Médicas. 2005. Cap. 25. Págs: 225-229.
18. Cohn EB, Schaeffer AJ. Urinary Tract Infections in Adults. Digital Urology. 127:89-107.
19. Lipsky BA. Urinary tract infections in men: Epidemiology, pathophysiology, diagnosis and treatment. Ann Intern Med. 1989; 110:138-150.
20. Warren YW. Catheter-associated urinary tract infections. Infect Dis Clin N Am. 1987;1:823-824
21. Echevarría J, Sarriente E, Oscre F. infección del tracto urinario y manejo antibiótico. Acta Med Per. Perú 2006; 23: 26-31
22. Martínez M. Infecciones binariaas complicadas: Revisión y tratamiento. Información terapéutica del sistema nacional de salud, Madrid 2004; 28: 137-144.
23. Hooton TM. The epidemiology of urinary tract infection and the concept of significant bacteriuria. Infection. 1990; Suppl 2:S40-3
24. Kunin CM. An overview of urinary tract infections. En: Kunin CM, editor. Urinary tract infection. Detection, prevention and management. 5th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. p. 2-21.
25. Clarridge JE, Pezzlo MT, Vosti KL. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. En: Weissfeld AS, editor. Cumitech 2A. Washington DC: American Society for Microbiology; 1987.
26. Kunin CM. Diagnostic methods. En: Kunin CM, editor. Urinary tract infection. Detection, prevention and management. 5th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. p. 42-77.
27. Miller JM, Holmes HT, Krisher K. General principles of specimen collection and handling. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editores. Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 2003. p. 55-66, 9, 14.
28. Nataro J, Kaper J. Diarrheagenic *Escherichia coli* Rev Clin Microbiol. 1998; 11:142-201
29. Kühn I, Allestam G, Stenstrom A, Möllby R. Biochemical fingerprinting of water coliform bacteria, a new method for measuring phenotypic diversity and for

- comparing different bacterial populations. Rev Appl Environ Microbiol. 1991:3171-3177.
30. Ahmed W, Tucker J, Bettelheim K, Neller R, Katouli M. Detection of virulence genes in *Escherichia coli* of an existing metabolic fingerprint database to predict the sources of pathogenic *E. coli* in surface waters. Rev Water Res. 2007;41(16):3785-3791.
31. Landgren M, Odén H, Kühn I, Österlund A, Kahlmeter G. Diversity among 2481 *Escherichia coli* from women with community-acquired lower urinary tract infections in 17 countries. Rev Antimicrobial Chemotherapy. 2005:1-10.
32. Reyes D, Vilchez S, Paniagua M, Colque P, Weintraub A, Mollby R, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* markers and phenotypes among fecal *E. coli* isolates collected from Nicaraguan infants. Rev Clin Microbiol. 2010; 48(9).
33. Reyes D, Vilchez S, Paniagua M, Colque P, Weintraub A, Mollby R, et al. Diversity of intestinal *Escherichia coli* populations in Nicaraguan children with and without diarrhoea Rev Med Microbiol. 2009;58(12):1593-600
34. Murray PR, Rosenthal KS, Pfäuer M. Microbiología médica. 5ta edición. España: Elsevier; 2007.
35. Mandell G, Bennetts J, Dolin R. Principles & practice of infectious diseases. Rev Churchill Livingstone. Volumen 2. 8va edición. Philadelphia; 2000.
36. CNDR/MINSA. Manual de Procedimientos de Bacteriología Médica. Susceptibilidad antimicrobiana. . Managua. Nicaragua 2004; cap16: 287-292.
37. Frost L, Leplae R, Summers A, L. T. Mobile genetic elements: the elements of open source evolution. Rev Nat Microbiol. 2005; 3:722-732.
38. Tafur D.J., Torres A. J, Villegas M.V. Mecanismos de Resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. Artículo de Revisión. Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM). Cali, Colombia. 2008. Págs 217-226. Volumen 2 No 3.
39. Cavalieri S, Harbeck R, McCarter Y, Ortez J, Rankin I, Sautter R, et al. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Rev American Society for Microbiol OPS. 2005.

40. Lezameta L., González E., Tamariz J.H. comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de Beta- lactamasas de espectro extendido. Rev Peru Med Exp Salud Publica. Lima, Perú. 2010. Págs 345-351.
41. Reyes D. *Escherichia coli* and Diarrhea in Nicaraguan Children. Tesis doctoral Karolinska Institutet, Suecia; 2010.
42. Matthew A, Cockerill F, Willian A, Dudley M, Eliopoulos G, Hecht D, et al. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobials susceptibility testing. Rev Twentieth Informational Supplement. 2010; 30.
43. López M., Barcenilla F., Amaya R., Garnacho J. Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos [Internet]. [Citado 11 de Septiembre 2016]. Elsevier España. Med Intensiva. 2011;35(1):41-53. URL disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/medinte/v35n1/puesta.pdf>
44. Ochoa S., Eiros J., Pérez C., et al. Etiología de las infecciones del tracto urinario y sensibilidad de los uropatógenos a los antimicrobianos [Internet]. [Citado 11 de Septiembre 2016] R E V E S P Q U I M I O T E R A P. 2005; Vol. 18 (Nº 2). URL disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/18/2/124.pdf> art 1
45. Guevara N., Guzmán M., Merentes A. et al. Patrones de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias gramnegativas aisladas de infecciones del tracto urinario en Venezuela: Resultados del estudio SMART 2009-2012 [Internet]. [Citado 11 de Septiembre 2016]. Rev Chilena Infectol 2015; 32 (6): 639-648. URL disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v32n6/art05.pdf>
46. Castro N., Salgado J., Ocampo R., Silva J. y Ruíz M. Caracterización de β lactamasa de espectro extendido producidas por *Escherichia coli* de infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad de Chilpancingo, Guerrero, México [Internet]. [Citado 11 de Septiembre 2016]. URL disponible en: <http://posgradoeinvestigacion.uagro.mx/tlamati/t51/t512.pdf>
47. Hooton TM, Besser R, Foxman B, Fritsche TR, Nicolle LE. Acute uncomplicated cystitis in an era of increasing antibiotic resistance: a proposed approach to empirical therapy. Clin Infect Dis 2004;39:74–80.

48. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *Clin Infect Dis* 1999;29:745–58.
49. Mohamed O., Alcántara J., et al. Actualización del documento de consenso sobre infecciones del tracto urinario [Internet]. [Citado 12 de Septiembre 2016] Publicado por la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas . Volumen 13, suplemento 1 _ 2012. URL disponible en: <http://www.samfyc.es/pdf/GdTenfinf/201208.pdf>
50. Blanco V., Maya J., Correa A., et al. Prevalencia y factores de riesgo para infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad causadas por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido en Colombia [Internet]. [Citado 11 de Septiembre 2016]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015. URL disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-avance-resumen-prevalencia-factores-riesgo-infecciones-del-S0213005X15004553>
51. Andreu A, Alós JI, Gobernado M, Marco F, De la Rosa M, García-Rodríguez JA, Grupo Cooperativo Español para el Estudio de la Sensibilidad Antimicrobiana de los Patógenos Urinarios. Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad. Estudio nacional multicéntrico. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005; 23:4-9.
52. Andreu A, Planells I y Grupo Cooperativo Español para el Estudio de la Sensibilidad Antimicrobiana a los Patógenos Urinarios. Etiología de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad y resistencia de *Escherichia coli* a los antimicrobianos de primera línea. Estudio nacional multicéntrico. *Med Clin (Barc)*
53. Cuevas O, Cercenado E, Gimeno M, Marín M, Coronel P, Bouza E, and Spanish Urinary Tract Infection Study Group (SUTIS). Comparative in vitro activity of cefditoren and other antimicrobials against Enterobacteriaceae causing community-acquired uncomplicated urinary tract infections in women: a Spanish nationwide multicenter study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 67:251-260.
54. Oteo J, Lázaro E, de Abajo FJ, Baquero F, Campos J; Spanish members of EARSS. Antimicrobial-resistant invasive *Escherichia coli*, Spain. *Emerg Infect Dis* 2005;11:546-553.

55. Gobernado M, Valdés L, Alós JI, García-Rey C, Dal-Ré R, García-de-Lomas J y Grupo español de vigilancia de los patógenos urinarios. Sensibilidad a los antimicrobianos de aislamientos de *Escherichia coli* de mujeres con cistitis no complicada durante un periodo de un año en España. Rev Esp Quimioter 2007; 20:68-76.
56. Caro Narros MR, Hernando Real S, Carrero González P, García Carbajosa S. Estudio de multiresistencia antibiótica de *Escherichia coli* en urocultivos. Med Clin (Barc) 2007; 129:409-411.
57. Lerma M, Cebrián L, Giménez MJ, Coronel P, Gimeno M, Aguilar L, et al. Sensibilidad a β -lactámicos de aislados clínicos de *Escherichia coli* con diferentes fenotipos de resistencia procedentes de infecciones urinarias. Rev Esp Quimioter 2008;21:149-152.
58. García MV, Gallardo MM, Rodríguez-Ortega R, Ropera F, Granados E, Viciano MC, et al. Distribución de los patrones de sensibilidad de *Escherichia coli* intrahospitalario y extrahospitalario y los fenotipos de resistencia asociados en el año 2005. Rev Esp Quimioter 2008; 21:157-165.
59. Sánchez Merino JM, Guillan Maquieira C, Fuster Foz C, López Medrano R, González Pérez M, Raya Fernández C, et al. Evolución de la resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en muestras de orina procedentes de la comunidad. Arch Esp Urol 2008; 61: 776-780.
60. Tena D, González-Praetorius A, González JC, Heredero E, Illescas S, Sáinz de Baranda C, et al. Evolución del patrón de sensibilidad de *Escherichia coli* en infecciones del tracto urinario diagnosticadas en la comunidad durante el periodo 2003-2007. Estudio multicéntrico en Castilla la Mancha. Rev Esp Quimioter 2010; 23:36-42.
61. Sahuquillo-Arce JM, Selva M, Perpiñán H, Gobernado M, Armero C, López-Quílez A, et al. Antimicrobial resistance in more than 100,000 *Escherichia coli* isolates according to culture site and patient age, gender, and location. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55:1222-1228.
62. Matute A., Cuadra R., Zúniga E., et al. Guía Terapéutica de Infecciones del Tracto Urinario en Adultos, Mujeres Embarazadas y Niños. HEODRA UNAN-LEÓN. 2005

63. González M., Medina A. Caracterización Fenotípica y Molecular de *Enterobacterias* aisladas de urocultivos en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la UNAN- León, Junio-Octubre 2012. Tesis para optar al título de licenciatura en bioanálisis.
64. Orrego C., Henao C., Cardona J. Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana [Internet]. [Citado 11 de Septiembre 2016] Acta Médica Colombiana Vol. 39 N°4 ~ Octubre-Diciembre 2014. URL disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/amc/v39n4/v39n4a08.pdf>
65. Ramos N., Dzung D., Stopsack K. et al. Characterisation of uropathogenic *Escherichia coli* from children with urinary tract infection in different countries, Australia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. Springer-Verlag 2011
66. Landgren M., Odén H., Kuhn I., Osterlund A. y Kahlmeter G. Diversity among 2481 *Escherichia coli* from women with community- acquired lower urinary tract infections in 16 European countries and Canada. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005.