



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
ESCUELA DE GRADUADOS**

TRABAJO DE TITULACIÓN EXAMEN COMPLEXIVO  
PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE ESPECIALISTA  
EN PATOLOGÍA CLINICA

TÍTULO DE ESTUDIO DE CASO  
“RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* EN  
INFECCIONES DE VIAS URINARIAS. PROTOCOLO DE  
PATRON DE SENSIBILIDAD”

**AUTOR:**

DRA. KATHERINE SILVA WONG

**TUTOR:**

DRA. CARMEN MOSQUERA HERRERA

**AÑO 2016**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**



Presidencia  
de la  
República



<b>REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGIA</b>		
<b>FICHA DE REGISTRO DE TESIS</b>		
<b>TÍTULO Y SUBTÍTULO:</b> Resistencia antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i> en infecciones de vías urinarias. Protocolo de patrón de sensibilidad.		
<b>AUTOR:</b> Dra. Katherine Silva Wong	<b>TUTOR:</b> Dra. Carmen Mosquera Herrera	
	<b>REVISOR:</b> Dr. Guillermo Maruri	
<b>INSTITUCIÓN:</b> UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL	<b>FACULTAD:</b> Ciencias Médicas	
<b>CARRERA:</b> Patología Clínica		
<b>FECHA DE PUBLICACIÓN:</b>	<b>No. DE PÁGS:</b> 32	
<b>ÁREAS TEMÁTICAS:</b> Salud humana		
<b>PALABRAS CLAVE:</b> Microorganismo, infección urinaria, sensibilidad, resistencia.		
<b>RESUMEN:</b> Una de las causas más frecuente de consulta de atención primaria, son las infecciones de vías urinarias teniendo como patógeno más frecuente <i>Escherichia coli</i> . Como objetivo de este estudio de caso cualitativo instrumental se propone diseñar un protocolo de patrón de sensibilidad de <i>Escherichia coli</i> en infección de vías urinarias, analizando urocultivos y los patrones de resistencia de <i>Escherichia coli</i> para demostrar la sensibilidad a los antimicrobianos. La resistencia se evaluó bajo parámetros de la CLSI 2015, mediante método manual de difusión de disco Kirby-Bauer. Obteniendo como resultado el 67,74% con el germen <i>Escherichia coli</i> identificado mediante equipo automatizado Maldi-Tof, a los cuales se les realizaron antibiogramas con el empleo de los discos de antibióticos: amikacina, ciprofloxacina, fosfomicina, amoxicilina/ácido-clavulánico, trimetropin-sulfametoxazol, cefotaxima, ceftazidima, nitrofurantoina, imipenem. Se concluye que la mejor opción terapéutica puede ser el uso en primera línea de fosfomicina y amikacina para el manejo de infecciones de vías urinarias y eliminar del tratamiento empírico trimetropin/sulfametoxazol por la alta resistencia encontrada.		
<b>No. DE REGISTRO (en base de datos):</b>	<b>No. DE CLASIFICACIÓN:</b>	
<b>DIRECCIÓN URL (tesis en la web):</b>		
<b>ADJUNTO PDF:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO
<b>CONTACTO CON AUTOR/ES:</b>	Teléfono: 0997621616	E-mail: kathysilvaw@hotmail.com
<b>CONTACTO EN LA INSTITUCIÓN:</b>	Nombre: SECRETARIA DE LA ESCUELA DE GRADUADOS	
	Teléfono: 2288086	
	E-mail: egraduadosug@hotmail.com	

: Av. Whymper E7-37 y Alpallana, edificio Delfos, teléfonos (593-2) 2505660/1; y en la Av. 9 de octubre

624 y Carrión, edificio Promete, teléfonos 2569898/9. Fax: (593 2) 2509054

## APROBACION DEL TUTOR

En mi calidad de tutor del Programa de Especialidad en Patología Clínica, nombrado por el Decano de la Facultad de Medicina, CERTIFICO: que he analizado el estudio de caso presentada como examen complejo, como requisito para optar el grado académico de Especialista en Patología Clínica, titulada: “RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* EN INFECCIONES DE VIAS URINARIAS. PROTOCOLO DE PATRON DE SENSIBILIDAD”, la cual cumple con los requisitos académicos, científicos y formales que demanda el reglamento de posgrado

Atentamente

 MSC  
DRA. CARMEN MOSQUERA HERRERA. MSC

TUTOR

Guayaquil, 15 de MARZO de 2016

## **DEDICATORIA**

Dedico de manera especial a mis padres Mario y Gilda pues ellos fueron el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentaron en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación.

Gracias Dios por concederme tan buenos padres.

A mi hija Nicole y mis hermanos que me han ofrecido el amor, la calidez y el apoyo incondicional de la familia a la cual amo.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios gracias por haberme dado la oportunidad de realizar este estudio y colocarme en el camino a personas tan maravillosas como mis padres, mi hija, mis hermanos, mis amigos y mis profesores, a los cuales les agradezco por estar siempre apoyándome en los momentos que lo he necesitado.

### **DECLARACIÓN EXPRESA**

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL”

Katherine Silva Wong

FIRMA

**DRA. KATHERINE SILVA WONG**

## **ABREVIATURAS**

**CLSI:** CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE

**IVU:** INFECCION DE VIAS URINARIAS

**ITU:** INFECCION DEL TRACTO URINARIO

**BLEE:** BETA LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO

**MALDI-TOF:** DESORCION/IONIZACION LASER ASISTIDA POR  
MATRIZ-TIEMPO DE VUELO

**IDSA:** SOCIEDAD AMERICANA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

**CIM:** CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA

**CDIU:** CATEGORIA, DIMENSIONES, INSTRUMENTOS, UNIDAD DE  
ANALISIS

**OMS:** ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

**DNA:** ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

**UFC:** UNIDAD FORMADORA DE COLONIAS

**ATCC:** AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION

**ISO:** INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION

# CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Objeto de Estudio .....	2
1.2 Campo de Investigación .....	2
1.3 Pregunta científica .....	2
1.4 Delimitación del problema .....	2
1.5 Justificación.....	3
1.6 Objetivos .....	3
1.7 Premisa .....	4
1.8 Solución propuesta .....	4
FUNDAMENTACION TEORICA Y METODOLOGICA .....	5
2.1 Marco Teórico .....	5
2.1.1 Teorías generales.....	5
2.1.2 Teoría sustantiva .....	8
2.1.3Referentes empíricos.....	12
2.2Marco Metodológico.....	15
2.2.1Categorías.....	15
2.2.2 Dimensiones.....	15
2.2.3 Instrumentos.....	16
2.2.4 Unidad de análisis .....	16
2.2.5 Gestión de datos .....	16

2.2.6 Criterios éticos .....	18
2.2.7 Resultados .....	18
2.2.8 Discusión.....	21
SOLUCION PROPUESTA.....	27
CONCLUSIONES .....	29
RECOMENDACIONES .....	29
BIBLIOGRAFIA .....	30

## RESUMEN

Una de las causas más frecuente de consulta de atención primaria son las infecciones de vías urinarias teniendo como patógeno más frecuente la *Escherichia coli*.

En años recientes, la administración indiscriminada de antimicrobianos ha resultado en la selección de cepas resistentes que producen fracaso del tratamiento empírico y complicación de los procesos infecciosos, por ello este estudio de caso cualitativo instrumental propone como objetivo establecer un protocolo de patrón de sensibilidad de *Escherichia coli* en infección de vías urinarias para ser empleado en el Centro de Investigación Microbiológica de la ciudad de Guayaquil, analizando urocultivos recibidos en el periodo octubre-noviembre 2015 en el Centro de Investigación Microbiológica, analizando los patrones de resistencia de *E. coli* para demostrar la sensibilidad a los antimicrobianos.

Fueron analizadas los datos de los reportes de urocultivos que tuvieron crecimiento bacteriano. La resistencia se evaluó bajo parámetros de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2015), mediante método manual de difusión de disco Kirby-Bauer con sensibilizadores. Obteniendo como resultado, dentro de las categorías de factores microbiológicos, de ellos 67,74% con el germen *E. coli* identificado mediante el equipo automatizado Maldi Tof, a los cuales se les realizaron antibiogramas con el empleo de discos de antibióticos: amikacina, ciprofloxacina, fosfomicina, amoxicilina/ácido-clavulánico, trimetropin-sulfametoxazol, cefotaxima, ceftazidima, nitrofurantoina, imipenem.

En relación a los factores biológicos el sexo más afectado fue el femenino. De acuerdo a los factores terapéuticos *E. coli* mostró sensibilidad alta para imipenem (100%), fosfomicina (80,95 %), amikacina (80,95 %), mientras que la mayor resistencia la presenta frente a trimetropin-sulfametoxazol(75,23%), amoxi/ ac. clavulánico (68.57 %), ciprofloxacina (45.71%), cefotaxima (38.09%), nitrofurantoina (37.14%) y ceftazidima (33.33%).

Se concluye que la mejor opción terapéutica puede ser el uso en primera línea de fosfomicina, amikacina para el manejo de infecciones de vías urinarias y eliminar del tratamiento empírico trimetropin/sulfametoxazol por la alta resistencia encontrada.

**Palabras claves:** *microorganismo, infección urinaria, sensibilidad, resistencia.*

## ABSTRACT

One of the most common causes of primary care consultation are urinary tract infections having as most frequent pathogen *Escherichia coli*.

In recent years, the indiscriminate use of antimicrobials has resulted in the selection of resistant strains that produce failure of empirical treatment and complication of infectious processes, so an objective was proposed to establish a protocol of sensitivity pattern of *Escherichia coli* infection of urinary tract to be used in the Microbiological Research Center of the city of Guayaquil.

Studying urine cultures received during the period October-November 2015, analyzing patterns *Escherichia coli* resistance to demonstrate the antimicrobial susceptibility. There were analyzed urine cultures from both men and women. The resistance was evaluated under the parameters of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2015), by manual disk diffusion method of Kirby-Bauer with sensi-discs. Resulting in positive cultures, of which 67,74% was *Escherichia coli* germ identified by automated equipment Maldi Tof, to which were performed antibiograms with the use of antibiotic disks, amikacin, ciprofloxacin, fosfomicin, amoxicillin / clavulanate , trimethoprim-sulfamethoxazole, cefotaxime, ceftazidime, nitrofurantoin, imipenem.

The most affected was the female gender. *Escherichia coli* showed high sensitivity to imipenem (100%), fosfomicin (80.9%), amikacin (80.9%), while the higher resistance against trimethoprim-sulfamethoxazole (75.23%), amoxicillin / clavulanate (68.57 %), ciprofloxacin (45.71%), ceftazidime (38.09%), nitrofurantoin (37.14%) and cefotaxime (33.33%). The best treatment option may be the first-line use of fosfomicin, amikacin for the treatment of urinary tract infections and eliminate the trimethoprim / sulfamethoxazole empirical treatment for high resistance encountered.

***Keywords: microorganism, urinary tract infection, sensitivity, resistance***

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones de las vías urinarias se definen como un grupo de condiciones que tienen en común la presencia de un número significativo de bacterias en la orina. Las infecciones agudas de las vías urinarias se pueden subdividir en dos grandes categorías anatómicas: la infección de las vías inferiores (uretritis, cistitis y prostatitis) y la infección de las vías superiores (pielonefritis aguda, absceso renal).

La morbilidad por infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad es alta y el uropatógeno más frecuente es *Escherichia coli*. El aumento de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos limita la administración de antibióticos baratos y de espectro limitado, lo que afecta el costo y el acceso a la atención. Las Infecciones Urinarias representan un desafío para su diagnóstico etiológico y manejo clínico. El riesgo de presentar una Infección Urinaria depende de diversos factores como: el género, edad, actividad sexual, presencia de embarazo, obstrucción del flujo urinario, cateterización o instrumentación urológica. La forma de verificar su existencia es por medio de un cultivo microbiológico (urocultivo), en el que tarda de 18-24 horas el crecimiento del uropatógeno.

Existe diversidad de opinión en la literatura médica sobre las opciones y duración del tratamiento en los distintos procesos infecciosos urinarios, siendo clave el conocimiento del perfil local de la resistencia antimicrobiana. La terapia antimicrobiana comenzó en los años treinta con las sulfonamidas, durante las décadas siguientes se han producido grandes cambios, tanto en los tipos de infecciones observadas como en la susceptibilidad y resistencia de los gérmenes, lo que ha producido una incesante búsqueda de alternativas terapéuticas cada vez más efectivas, las cuales añaden a su baja toxicidad, un amplio espectro de actividad.

Dicho tratamiento varía de acuerdo a la edad del paciente, sexo, enfermedades asociadas, agente infeccioso y si es de la vía urinaria alta o baja. Con este estudio de caso cualitativo instrumental se ha propuesto determinar la resistencia a los antimicrobianos e inferir opciones de manejo empírico para el uropatógeno

comunitario más frecuente, *Escherichia coli*, aislado en urocultivos que se realizaron en el Centro de Investigación Microbiológica en Guayaquil.

### **1.1 Objeto de Estudio**

Infección de vías urinarias con *E.coli*

### **1.2 Campo de Investigación**

Resistencia antimicrobiana de *E. coli* en urocultivos

### **1.3 Pregunta científica**

Como disminuir la alta tasa de resistencia antimicrobiana de *E. coli* en las infecciones de vías urinarias en el Centro de Investigación Microbiológica de Guayaquil a través de una identificación temprana del germen causal y de un protocolo de patrón de sensibilidad en urocultivos?

### **1.4 Delimitación del problema**

La importancia de las infecciones urinarias reside en el enorme impacto que representa en la población, constituyendo del 2 al 5% de las consultas de atención primaria.

La *E. coli* ha sido el patógeno más frecuentemente aislado en muestras de orina. La alta tasa de resistencia antimicrobiana de *E. coli* en los urocultivos ha ido en aumento en los últimos años. Varios factores han intervenido para que esto ocurra, el uso incorrecto de las terapias antimicrobianas, así como los tratamientos incompletos son dos de los factores biológicos que más intervienen. Debido a esto las infecciones urinarias por este patógeno se repiten, lo cual conlleva a los factores microbiológicos, trayendo consigo un aumento de cepas de *E. coli* en la comunidad, las cuales sufren mutaciones que junto al empleo de terapias empíricas ineficientes y el mal uso de los antibióticos las hacen más resistentes haciendo necesario el empleo de otros antibióticos. Como consecuencia están los factores terapéuticos que se representan en el aumento del costo del tratamiento, se prolongan las terapias y pueden existir complicaciones afectando la calidad de vida del paciente y provocando malestar en la población.

Todo esto asociado a la poca conciencia del uso racional de los antibióticos. El tratamiento empírico de las infecciones urinarias debe tener en cuenta la

sensibilidad de las bacterias potencialmente causantes de las mismas. El conocimiento de los patrones de sensibilidad de los gérmenes más frecuentemente aislados en muestras de orina de cada zona permite aplicar el tratamiento empírico más adecuado en caso de infección.

## **1.5 Justificación**

Como existe un problema latente de una alta tasa de resistencia antimicrobiana observada en *E. coli* como el uropatógeno más comúnmente aislado se propone diseñar un protocolo específico para el patrón de sensibilidad de *E.coli* en urocultivos mediante el cual será posible seleccionar tratamientos empíricos y específicos más adecuados y la creación de lineamientos aplicables a nuestro medio que sean más eficaces y disminuyan complicaciones y costos.

Es necesario hacer conciencia sobre la importancia de hacer una correcta y rápida identificación del padecimiento y microorganismo causal, para dar lugar a la implementación de un esquema terapéutico que haya demostrado bajas tasas de resistencia y que evite el uso incontrolado de antimicrobianos.

## **1.6 Objetivos**

### **OBJETIVO GENERAL**

Diseñar un protocolo de patrón de sensibilidad de *Escherichia coli* en infección de vías urinarias en el Centro de Investigación Microbiológica de Guayaquil.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Revisando las teorías generales, teorías sustantivas y los referentes empíricos; mediante el análisis de los reportes del laboratorio, se desarrollan los siguientes objetivos específicos:

- Analizar urocultivos con crecimiento bacteriano en el Centro de Investigación Microbiológica de Guayaquil mediante la revisión de la orden de ingreso de laboratorio y la hoja de registro de los resultados de laboratorio.

- Determinar el aislamiento e identificación de los microorganismos por espectrometría de masa MALDI-TOF.
- Analizar los patrones de resistencia de *E. coli*. para demostrar la sensibilidad a los antimicrobianos.
- Diseñar un protocolo de patrón de sensibilidad de *E. coli* en urocultivos para el Centro de Investigación Microbiológica.

### **1.7 Premisa**

Sobre la base del análisis de los referentes teóricos generales y sustantivos y los referentes empíricos se analizan los urocultivos con crecimiento bacteriano, la identificación temprana del microorganismo y el conocimiento del patrón de sensibilidad antibiótica de *E. coli*, lo cual es fundamental para orientar el tratamiento empírico más adecuado para evitar la resistencia de *E.coli* en Infección de Vías Urinarias.

### **1.8 Solución propuesta**

En este estudio de caso cualitativo instrumental sobre el problema de la alta tasa de resistencia de *E. coli* en infección de vías urinarias se propone diseñar e implementar un protocolo de un patrón de sensibilidad para *E. coli* en urocultivos para el Centro de Investigación Microbiológica, para que se socialice con los demás laboratorios de Microbiología y con los médicos generales y especialistas para generar conocimientos actualizados de Microbiología.

# FUNDAMENTACION TEORICA Y METODOLOGICA

## 2.1 Marco Teórico

### 2.1.1 Teorías generales

Una infección bacteriana de vías urinarias es el tipo de infección más común que afecta al tracto urinario. Los gérmenes que las producen son en su gran mayoría bacilos Gram negativos. La orina, es el líquido que los riñones filtran, pero normalmente no contiene bacterias; sin embargo la infección se puede producir cuando las bacterias entran a la vejiga o al riñón y se multiplican en la orina. Existen infecciones de tres tipos: uretritis, cistitis y pielonefritis. Por lo general los síntomas más comunes son dolor de espalda, fiebre alta, y vómitos (Figueroa E, 2012).

Las infecciones de las vías urinarias son unas de las tres principales causas de infecciones asociadas a la atención de la salud (heridas quirúrgicas, respiratorias y urinarias). En infecciones de las vías urinarias no complicadas, el patógeno más frecuente, con incidencia de hasta 80%, es *E. coli*, y el sexo femenino el más afectado. Otros agentes patógenos que suelen producir esta infección son: *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*, etc. Y aunque estos son menos frecuentes que *E. coli*, en ocasiones son más agresivos; como es el caso de *S. saprophiticus* (Rendon, Reyes, Binet, & F., 2012)

En la incidencia los patógenos más frecuentes vienen de la flora intestinal. Es bien conocido el mecanismo de infección “ascendente”, donde el patógeno es arrastrado desde la uretra hasta la vejiga y de ahí por los uréteres puede llegar hasta los riñones. Las mujeres son más vulnerables porque su uretra es más corta, además de patógenos vaginales que también pueden invadirla. Las mujeres, durante el coito, embarazo y parto sufren traumatismos uretrales o vesicales que facilitan la proliferación o entrada de bacterias a la vía urinaria (Manikandan S G. S., 2011).

Hay varias maneras en que las bacterias entran a la uretra. Las bacterias pueden ser introducidas en la vejiga de una niña al limpiarse de atrás hacia adelante

después de tener una evacuación intestinal, esto puede contaminar la abertura de la uretra. En mujeres adultas durante las relaciones sexuales, las bacterias del área de la vagina pueden ser empujadas dentro de la uretra y con el tiempo terminan en la vejiga, donde la orina crea un ambiente propicio para el crecimiento de las bacterias. Ésta es la razón por la que las mujeres que son sexualmente activas a menudo sufren de infecciones urinarias. El uso de espermicidas y diafragmas como anticonceptivos también puede aumentar el riesgo de desarrollar una infección del tracto urinario (Figuroa E, 2012).

Las Infecciones de vías urinarias bajas usualmente producen ciertos síntomas clínicos que ayudan en su diagnóstico. Hay varios síntomas que se asocian con las infecciones de vías urinarias: micción frecuente, disuria, polaquiuria, dolor en la parte inferior del abdomen, dolor por encima del hueso púbico (en las mujeres), una sensación de tener el recto lleno (en los hombres), orina con mal olor, fiebre leve, una sensación general de malestar, temblor y fatiga. Una infección de riñón podría presentar síntomas más graves, incluyendo: fiebre alta, escalofríos, náuseas y vómitos, dolor abdominal, hematuria, dolor de espalda, justo encima de la cintura. Estos síntomas y signos (mas una historia clínica completa) nos pueden dirigir a la sospecha diagnostica de una infección, la cual podemos confirmar mediante un análisis de laboratorio de la orina del paciente (Jeon, 2012).

El urocultivo y antibiograma son de uso común y necesario en el tratamiento de dicha enfermedad y permite conocer tanto el agente causal como un perfil de resistencia/sensibilidad a antibacterianos (Schaeffer Anthony J. MD I. Schaeffer Edward M., 2012). Para que la terapia sea lo más eficaz posible, el médico tiene que decidirla basándose en pilares fundamentales: a) deducir qué bacteria tiene más probabilidades de ser la causa de la infección a partir de las características del paciente, especialmente su edad, sexo, estado de las vías urinarias, y terapia previa, y b) deducir qué antibiótico es el más eficaz para aquella bacteria a partir de los datos locales de sensibilidad antimicrobiana (Tucto-Succhil & Pedro Mercado-Martínez, 2014).

Generalmente el tratamiento antibiótico se inicia al instante después de la toma de muestra de orina, y se realiza de forma empírica hasta obtener el resultado de un cultivo y antibiograma que demuestre la sensibilidad o resistencia del microorganismo causal frente al antibiótico inicialmente prescrito y se basa a consideración de la clínica observada por el médico y teniendo en cuenta consideraciones epidemiológicas, y los estudios realizados donde se indica que los patógenos más frecuentemente aislados pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. Esto implica que es necesario conocer la susceptibilidad in vitro de los agentes etiológicos de ITU, frente a los antimicrobianos de uso habitual, debido al fenómeno dinámico y en constante aumento de la resistencia bacteriana. (Vellinga, 2012).

El tratamiento de las infecciones de vías urinarias se ha realizado por muchos años mediante la prescripción por parte del clínico de agentes antimicrobianos los cuales deben ser tomados durante 5-10 días. Con el pasar de los años se han implementado terapias más cortas donde se reduce el consumo de antibióticos y se disminuye las dosis. Esto ha sido beneficioso ya que el paciente cumple con el tratamiento, se reduce la resistencia de los patógenos a los antimicrobianos y reduce el costo del tratamiento. Para lograr esto ha sido necesario crear nuevos antibióticos que cumplan con algunas propiedades como el ser activo in vitro frente a los patógenos urinarios comunes, alcanzar elevadas concentraciones en orina y que se prolonguen, que su actividad bactericida sea rápida frente a *E. coli* y otros uropatógenos frecuentes en las infecciones de vías urinarias, ser bajo inductor de resistencias, no poseer resistencia cruzada con otros antibióticos y ser bien tolerado (Tucto-Succhil & Pedro Mercado-Martínez, 2014).

En niños y en adultos las infecciones pueden producir reflujo de orina y, de esta forma, daño renal. En adultos hombres las infecciones recurrentes suelen complicarse con prostatitis, prolongando su tratamiento hasta cuatro semanas de antimicrobianos. Las infecciones recurrentes de las vías urinarias se relacionan con la genética, promiscuidad sexual, anomalías urogenitales, menopausia y cirugía pélvica previa (Nimri L, 2010). Cuando en las infecciones de vías

urinarias se realiza un tratamiento adecuado y oportuno se logra reducir el problema en la mayoría de los casos y se disminuye la aparición de complicaciones como infecciones recurrentes, e infecciones sistémicas.

### **2.1.2 Teoría sustantiva**

#### **Resistencia antimicrobiana**

En las últimas décadas se ha visto, de forma alarmante, el aumento de resistencias en todos los microorganismos; esto se ha convertido en un problema, pues las cepas mutantes se dispersan de forma preocupante, sobre todo en el medio intrahospitalario. Los mecanismos por los que incrementan su resistencia son: plásmidos, transposones y bacteriófagos. Estos poseen la adaptación de un fragmento de ADN recombinante extranjero que se añade al genoma del patógeno; o bien de forma inicial en mutaciones en el genoma de una bacteria (Manikandan S G. S., 2011).

Las bacterias tienen defensas intrínsecas y extrínsecas que las protegen de los antibióticos, la resistencia bacteriana intrínseca es una característica inherente de las bacterias que evita la acción de los antibióticos, por ejemplo, algunas paredes celulares bacterianas impiden la entrada de los antibióticos o contienen bombas que expulsan a los antibióticos desde el interior de la célula. La resistencia bacteriana extrínseca o adquirida resulta de la exposición inadecuada de las bacterias a los antibióticos produciéndose cepas resistentes. En los últimos años se ha detectado una progresiva disminución en la sensibilidad de *E.coli* a los antimicrobianos utilizados habitualmente para el tratamiento de las infecciones de vías urinarias. (Tucto-Succhil & Pedro Mercado-Martínez, 2014).

Para *Escherichia coli* se ha observado un aumento notable en la resistencia ante los antimicrobianos de primera línea que tradicionalmente eran suficientes para su tratamiento. Esta resistencia emergente se debe a la mutación de cepas susceptibles y a la diseminación de las cepas ya resistentes. Quizá la profilaxis en el tratamiento de infecciones de vías urinarias recurrentes estimule la

producción de mutaciones en los distintos patógenos (Rendon, Reyes, Binet, & F., 2012).

La resistencia bacteriana de *E. coli* a los antibióticos se relaciona con el consumo de éstos ya que, la presión selectiva que ejercen, favorece la creación, adaptación y diseminación de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. La prevalencia creciente de resistencias hace imprescindible que para orientar racionalmente el tratamiento empírico de la infección urinaria en el medio extrahospitalario, lo que constituye una práctica habitual y recomendada, los laboratorios de microbiología informen periódicamente a los clínicos de los patrones de sensibilidad de las bacterias potencialmente causantes de infección en cada área geográfica (Lee, 2013).

El mayor consumo de antibióticos, especialmente cefalosporinas y fluoroquinolonas, ha favorecido el aumento de *Escherichia coli* con patrón de multiresistencia debido a la producción o hiperproducción de betalactamasas, especialmente las betalactamasas de espectro extendido. Desde la década de 1990, enterobacterias multi-resistentes productoras de betalactamasa de amplio espectro han emergido en las infecciones de vías urinarias adquiridas en la comunidad y actualmente se reporta incluso presencia de resistencia cada día más elevada de *E. coli* a las fluoroquinolonas (Darquea, 2014).

Los plásmidos que codifican estas betalactamasas y que inactivan, penicilinas, cefalosporinas y aztreonam, contienen con frecuencia, otros genes de resistencia para distintos antimicrobianos, como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol. Excluyendo estos antimicrobianos, las alternativas terapéuticas para el adecuado tratamiento de las infecciones del tracto urinario comunitarias causadas por cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son muy limitadas (Morales Parra, 2012).

La resistencia a los inhibidores de la betalactamasa puede deberse a varios mecanismos: *a*) hiperproducción de la enzima (es el mecanismo más común); *b*) betalactamasas que no se han originado en TEM o SHV pero que se

relacionan con las cefalosporinas de las enterobacterias (enzimas de clase C; clasificación de Ambler); *c*) producción plasmídica de betalactamasa OXA (oxacilinas), menos sensible también que las TEM-1 a los inhibidores, y *d*) producción de enzimas derivadas de TEM cuya actividad betalactamasa no es claramente inhibida por el ácido-clavulánico (Velasco, 2010).

Uno de los mecanismos de resistencia reconocidos a las quinolonas, es la disminución de la permeabilidad de la membrana celular por reducción en las porinas de dicha membrana, lo que trae por consecuencia una baja penetración intracelular del antibiótico y un aumento de la concentración mínima inhibitoria por la alteración de la girasa del DNA. En vista del incremento tan acelerado de *E. coli* resistente a quinolonas, estos antibióticos deberían emplearse exclusivamente en IVU no complicadas.

Actualmente, se reconoce la influencia que ejerce la emergencia de bacterias con patrones de resistencia en la gravedad de este tipo de infecciones, a tal punto que se considera un problema de salud pública, tanto en el ámbito nosocomial como en el comunitario. El conocimiento del mapa de sensibilidad antimicrobiana en cada zona geográfica permitiría hacer frente a esta situación problemática, ya que se podría mejorar el uso de antibióticos y se facilitaría la elección del tratamiento empírico. (Castro-Orozco Raimundo, 2010)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que la prescripción no adecuada y abusiva de los antibióticos, la prolongación de los planes más allá de lo necesario, la irregularidad en la toma de las drogas, la automedicación y el aumento del consumo de antibióticos son las principales causas reconocidas del incremento de la resistencia bacteriana. (Lo, 2013). Por ello, en la actualidad es importante mantener una vigilancia de los perfiles de resistencia bacteriana en infecciones de vías urinarias que permita dar orientaciones terapéuticas a nivel local y nacional, con lo cual se puede evitar la selección y diseminación de cepas resistentes (Tuco-Succhil & Pedro Mercado-Martínez, 2014).

## Identificación de Cultivos Bacterianos por Espectrometría de Masa,

### MALDI TOF

Por muchos años la identificación bacteriana se ha basado en la utilización de métodos bioquímicos y fenotípicos, donde se incluyen las características morfológicas que presentan los microorganismos cuando se desarrollan en diferentes medios de cultivos. Estos procesos consumen bastante tiempo del personal del laboratorio y genera una carga grande de trabajo por la demora que puede tener lograr la identificación del agente patógeno lo que retrasa a su vez el resultado que emitirá el laboratorio y repercute en la salud del paciente, ya que entre más demore el resultado más tarda el clínico en recetar el antimicrobiano apropiado.

Se ha estado trabajando en la búsqueda de métodos que sean capaces de aumentar la exactitud y logren disminuir los tiempos de respuesta en la identificación bacteriana. Uno de estos métodos se basa en la identificación bacteriana mediante la espectrometría de masas, específicamente en el MALDI-TOF, por su sigla en inglés *matrix-assisted laser desorption/ionization, time-of-flight* (desorción/ionización láser asistida por matriz, tiempo de vuelo) el cual se emplea para la identificación de los microorganismos (bacterias, levaduras, hongos y micobacterias) mediante el análisis de biomoléculas (biopolímeros como las proteínas los péptidos y los azúcares) y moléculas orgánicas grandes (como los polímeros, los dendrímeros y otras macromoléculas) que tienden a hacerse frágiles y fragmentarse cuando son ionizadas por métodos más convencionales. Se basa en medir proteínas (patrones de espectrometría de masa), utiliza el cálculo de tiempo de migración (tiempo de vuelo) de cada fragmento de una molécula a través de un trayecto predeterminado previa desorción/ionización láser de la molécula en una matriz determinada.

Para la identificación microbiana por MALDI-TOF se deben seguir los siguientes pasos sencillos: se toma una colonia aislada, se le realiza una espectrometría de masas la cual se compara con la base de datos del equipo que consta de miles de especies y se obtiene el resultado en pocos minutos. (García, 2012)

### 2.1.3 Referentes empíricos

Se han encontrado referencias de investigaciones relacionadas a las infecciones del tracto urinario, especialmente causadas por *Escherichia coli*, así como la alta resistencia que este microorganismo ha alcanzado en los últimos años, apareciendo en una frecuencia mayor las cepas *Escherichia coli* productoras de beta lactamasas de amplio espectro que han sido aisladas de muestras de orinas tanto en pacientes adultos como jóvenes ya sea en el ambiente hospitalario o en el ambulatorio. Estos estudios apoyan al sector médico y ayudan a la prevención del aumento de la resistencia a los antibióticos evitando la aparición de microorganismos multiresistentes.

Según artículo de Paramo-Rivas y colaboradores publicado en el año 2015 en México, *Escherichia coli* es el uropatógeno más frecuente en la infección de vías urinarias; y se ha aislado en más del 85% de los casos. Para los autores del estudio el tratamiento empírico de la infección de vías urinarias se basa en la administración de antimicrobianos de primera línea, como trimetoprim-sulfametoxazol. Para el caso de infecciones en vías urinarias bajas la alternativa es nitrofurantoína y para el tratamiento de la infección de las vías urinarias altas se recomienda el uso de ciprofloxacino, ceftriaxona y aminoglucósidos. Paramo-Rivas y colaboradores plantean que, la administración indiscriminada de antimicrobianos ha resultado en la selección de cepas resistentes que producen fracaso del tratamiento empírico y complicación de los procesos infecciosos y que son las enterobacterias los principales microorganismos asociados con beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE).

Paramo-Rivas y colaboradores realizaron un estudio con el propósito de identificar la frecuencia de patógenos y los patrones de resistencia a antimicrobianos de microorganismos aislados en pacientes con infección de vías urinarias adquirida en la comunidad y hospitalizados en un sector de la Ciudad de México y como resultado de la investigación concluyeron que administración indiscriminada de antimicrobianos ha llevado a la generación de cepas resistentes que representa un problema creciente en países en vías de desarrollo. El principal microorganismo aislado fue *E. coli* y que existe una tendencia al incremento de

cepas productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) multirresistentes a antimicrobianos (Páramo-Rivas F, 2015).

Resultados similares fueron obtenidos por Betran y colaboradores en el 2015 cuando realizaron un estudio sobre la resistencia antibiótica de *E.coli* en infecciones urinarias en una región de España. En el trabajo publicado Betran indica que el principal agente etiológico de las ITU adquiridas en la comunidad, y el que más se ha asociado a recidivas, es *Escherichia coli* además plantea que el conocimiento de los patrones antibióticos de las bacterias que más frecuentemente producen ITU en el ámbito local es importante para indicar un tratamiento empírico racional y adecuado. En el trabajo los autores evaluaron la resistencia a varios antibióticos en cepas de *E. coli* aisladas en muestras de orina y valoraron si algunas de las pautas de tratamiento empírico comúnmente aceptadas y recomendadas por guías clínicas, serían aplicables en su entorno.

En el estudio realizado por Betran y colaboradores, *E. coli* fue la bacteria más frecuentemente aislada, suponiendo el 61,08% del total de urocultivos positivos. Se observó la evolución del patrón de resistencia bacteriana de *E. coli*, en el estudio comprobaron un aumento de resistencia estadísticamente significativo. En este estudio recomiendan no emplear el Amoxicilina-clavulánico para el tratamiento empírico de la infección urinaria y recomiendan el empleo de la Fosfomicina debido a su elevada actividad in vitro (sensibilidad superior al 96%) lo que la convierte en una alternativa de primera línea en el tratamiento empírico de las ITU. (Betrán, 2015).

La aparición cada vez más frecuente de *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido están constituyendo un grave problema a nivel de salud pública, debido a que pone en peligro la actividad de los antibióticos de amplio espectro, lo cual genera grandes dificultades terapéuticas teniendo repercusión en los pacientes.

En un estudio realizado en el 2014 en Perú, presentado por Díaz Monge se observó que de los antibióticos más frecuentemente usados en la práctica clínica, existe una resistencia de *E. coli* a trimetoprim/ sulfametoxazol del 74% (Díaz-Monge, 2015), valor que se encuentra por encima de lo encontrado en países europeos donde la resistencia de *E. coli* a trimetoprim/ sulfametoxazol varía de 19,1% - 34,5%. (Tucto-Succhil & Pedro Mercado-Martínez, 2014).

En el estudio realizado por Díaz-Monge y colaboradores también se mostró un porcentaje de resistencia elevado (60%) a las quinolonas. La importancia de las quinolonas radica, en que además de tener buena actividad contra microorganismos gramnegativos, su alta concentración en orina hacen que su uso sea específico para infecciones del tracto urinario. Por lo tanto encontrar porcentajes de resistencia que superen el 50% constituye un problema de salud pública.

Otro aspecto importante en las investigaciones sobre las infecciones en vías urinarias es el planteado por Darquea en el 2014 donde plantea que además hay que tomar en cuenta el género del paciente debido a que los datos epidemiológicos demuestran que son las pacientes femeninas quienes presentan con más frecuencia este padecimiento. Múltiples razones son dadas para explicar esta predilección. Las más importantes parecen ser razones anatómicas (uretra más corta, y cercanía de uretra a focos de posible infección como son el Introito vaginal y ano.) También es propuesta la explicación de que después de una relación sexual la uretra sufre contusiones durante la misma lo cual predispone a una infección. Esto tiene sentido especialmente cuando observamos que la incidencia de IVU en paciente femeninas sexualmente activas es mayor (Darquea, 2014)

En el año 2014 Tucto-Succhil y colaboradores realizaron un estudio sobre la resistencia bacteriana de cepas de *E. coli* aisladas de muestras de infecciones urinarias. En el estudio detectaron elevadas tasas de resistencia a varios antibióticos probados, entre ellos trimetoprima/ sulfametozaxol (74%) y Ciprofloxacino (67%). La Sociedad Americana para las Enfermedades Infecciosas (IDSA) recomiendan no utilizar antimicrobianos en las ITUs cuando los estudios de vigilancia demuestren una prevalencia de resistencia >20.0%. También detectaron antimicrobianos con una resistencia < a 20% tal como la Amoxicilina-Acido Clavulánico (8%); pero para Imipenem, no se observó cepas de *E. coli* resistentes. Estos porcentajes de resistencia resultan realmente importantes ya que son similares a los hallados en diferentes estudios en otros países lo que quiere decir que la resistencia que se maneja es comparable, y se deben acoger e implementar medidas para el control de esta resistencia. (Tucto-Succhil & Pedro Mercado-Martínez, 2014)

## **2.2 Marco Metodológico**

A la metodología cualitativa se la ha identificado tradicionalmente con el estudio de casos, el cual utiliza una selección de sujetos u objetos para ser estudiados. El estudio de caso es el análisis de una situación, que implica algún problema en particular. Según este aspecto los casos pueden ser específicos, para una comunidad científica y se estudian con la finalidad de conocerlos mejor. El estudio de caso instrumental se utiliza para el refinamiento de teorías y para avanzar en la comprensión de aquello que deseamos investigar. (Rosa, 2012).

### **2.2.1 Categorías**

En este estudio de caso cualitativo se presentan los factores biológicos, microbiológicos y terapéuticos que afectan a la alta tasa de resistencia antimicrobiana y que conllevan a complicaciones en el tratamiento debido a la poca conciencia en el uso racional de antimicrobianos y que tiene un enfoque directo con todos los factores. Siendo factores biológicos el uso incorrecto y la aplicación incompleta de la terapia antimicrobiana, sexo femenino; los factores microbiológicos que constituyen las infecciones de vías urinarias que se hacen más recurrentes y conllevan a la mutación que sufren los patógenos por la resistencia bacteriana y los factores terapéuticos como el empleo de las terapias empíricas inadecuadas, lo cual conlleva a interrumpir el tratamiento inicial y empezar un esquema nuevo de antimicrobianos lo que aumenta el tiempo y costo del tratamiento; por ello fue necesario realizar el estudio de la sensibilidad del patógeno más frecuentemente encontrado en las infecciones de vías urinarias para proponer el protocolo más adecuado para su tratamiento (Tabla 1).

### **2.2.2 Dimensiones**

La alta tasa de resistencia antimicrobiana de *E. coli* en las infecciones de vías urinarias, la cual se relaciona con el consumo de estos ya que, la presión selectiva que ejercen, favorece la creación, adaptación y diseminación de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. Por ello, los laboratorios de microbiología deben informar periódicamente a los médicos sobre los patrones de sensibilidad de las bacterias potencialmente causantes de infección en cada área geográfica para poder dar orientaciones terapéuticas a nivel local (Tabla 1).

### **2.2.3 Instrumentos**

Para la recolección de las muestras y el análisis de las mismas se tuvo en cuenta la orden o solicitud del cultivo y antibiograma generada por el médico y entregada junto a la muestra en el laboratorio. Se generó una orden de ingreso propia del laboratorio (anexos) donde se recogieron todos los datos necesarios y establecidos por el laboratorio siguiendo los procedimientos de calidad establecido. Se le indico un código a la muestra que fue la referencia para la trazabilidad de la misma. Se generó un reporte con los datos obtenidos de sensibilidad de cada una de las muestras positivas con crecimiento bacteriano y seleccionando para este estudio los urocultivos con aislamiento de *E. coli*.

### **2.2.4 Unidad de análisis**

Este estudio de caso cualitativo instrumental se realizó en el área de bacteriología del Centro de Investigación Microbiológica de la ciudad de Guayaquil. Se analizaron urocultivos que fueron recibidos en los meses de octubre-noviembre del año 2015, siguiendo los estándares y protocolos de calidad establecidos en la institución en la cual se labora bajo la certificación de calidad Norma ISO 9001:2008 en las fases pre-analítica, analítica y post analítica.

### **2.2.5 Gestión de datos**

La información recopilada mediante el análisis de los resultados de los reportes del laboratorio fue procesada, interpretada y posteriormente analizada (Figura 5)

#### **Recolección de muestras de orina y aislamiento e identificación de *Escherichia coli***

Se recolectó muestra de orina para urocultivos de ambos sexos. Las muestras fueron procesadas de inmediato en el laboratorio. El urocultivo se realizó mediante siembra con asa calibrada sobre la superficie de la caja de agar. Los cultivos fueron incubados a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  de 18-24 horas, después de la incubación se realizó lectura de las cajas (Figura 11).

Se seleccionaron las colonias medianas, circulares, lactosa positiva con crecimiento en Agar Mac Conkey. Se consideró cultivo positivo cuando se obtuvo un recuento mayor o igual a 100.000 UFC/mL. Se realizó una coloración de Gram para identificar a los bacilos Gram negativos. Posteriormente, se realizó la identificación de *Escherichia coli* empleando el equipo Maldi-Tof de Bruker (Figura 3). Una vez identificada la bacteria se procedió a realizar el antibiograma manual empleando la técnica y el método Kirby Bauer.

### **Preparación del inóculo**

A partir del cultivo puro, se seleccionó con un hisopo estéril la superficie de colonias morfológicamente similares y bien aisladas, se colocaron en tubos con solución salina estéril para inóculo, la turbidez final fue equivalente a la del patrón de turbidez 0,5 en la escala de Mc Farland, para lo cual se empleó un turbidímetro calibrado para verificar la turbidez del inóculo. Se agitó la suspensión durante pocos segundos y luego se procedió a realizar el antibiograma por difusión de disco en Agar Muller-Hinton. El método de difusión de disco en agar es cualitativo, y se caracteriza por ser fácilmente estandarizable y que está indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido.

Partiendo de una muestra clínica siempre se debe realizar un cultivo puro para poder comenzar el estudio de la sensibilidad antibiótica. Para esto se utiliza la técnica de aislamiento en placas que contengan un medio adecuado para la cepa en estudio. El antibiograma por disco difusión basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores, es uno de los métodos que la CLSI 2015 recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos.

En una placa de Agar Mueller Hinton se inóculo la suspensión de la cepa *E. coli* identificada, posteriormente se colocaron discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos los cuales fueron colocados con pinza estéril y distribuidos de manera que no hubiese superposición de los halos de inhibición. Se procedió a la incubación de las placas por un periodo de 18-24 horas a una temperatura de  $35\pm 2$  °C, transcurridas las horas se procedió a la lectura de las placas. Los discos aparecieron rodeados o no por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano lo que permite la interpretación de los resultados (Tabla 3).

Se les realizó el test fenotípico del doble disco para evidenciar la producción de betalactamasas de espectro extendido. Para el control de calidad se utilizaron las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *K. pneumoniae* ATCC 1705. La interpretación de los resultados se realizó en función de los criterios del CLSI 2015. (Tabla 2, Figura 12).

### **Interpretación de la susceptibilidad antibiótica**

Para la interpretación de la Susceptibilidad antibiótica se siguieron las siguientes normas: se determinaron cepas sensibles o resistentes de acuerdo a las dimensiones de los halos, según los parámetros del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2015).

#### **2.2.6 Criterios éticos**

Este estudio de caso cualitativo se realizó respetando el código de ética establecido en el laboratorio en cumplimiento a su sistema de gestión de calidad. Considerándose el no falsificar datos ni resultados y proceder siempre con honestidad, se solicitó al Director Técnico del Centro de Investigación Microbiológica de Guayaquil, permita llevar a cabo esta investigación mediante una solicitud de viabilidad que fue aprobada (Figura 1).

Los resultados fueron protegidos mediante sistema informático con clave de acceso solo al personal técnico, la documentación generada se almaceno en las áreas de estadística del laboratorio con acceso restringido. Todo el personal involucrado firmo acta de confidencialidad.

#### **2.2.7 Resultados**

En este estudio de caso cualitativo se incluyeron del 100% de urocultivos analizados, se seleccionaron el 20,28% que mostraron desarrollo bacteriano por lo que fueron seleccionados para realizar la identificación microbiana mediante espectrometría de masa por método automatizado empleando el equipo MALDI-TOF. El empleo de este equipo para la identificación permitió obtener una identificación temprana de género y especie posibilitando la realización del antibiograma ya con este conocimiento previo.

Obtener esta identificación hasta el término de especie en unos pocos minutos después de tener el desarrollo temprano de una colonia en el medio de cultivo, es de gran utilidad ya que se puede realizar la entrega de un informe preliminar al clínico, y esto junto al conocimiento de referentes del patrón de sensibilidad o resistencia, se puede ser más preciso en pre-escribir el antibiótico adecuado lo que le permite conducir el tratamiento empírico de antibiótico de una manera más eficiente.

La edad promedio de los pacientes fue de 38 años. Como resultado obtuvimos que el sexo de mayor afectación fue el femenino con un 78.7% de los cultivos positivos, mientras el sexo masculino fue afectado en 21.29%. El patógeno más frecuente en el global de pacientes fue *Escherichia coli* con 67.74%, el resto de los microorganismos aislados se encontraron en el siguiente porcentaje *Klebsiella pneumoniae* (11.61%), *Streptococcus agalactiae* (9.03%), *Proteus mirabilis* (3.22%), *Enterococcus faecalis* (1.93%) *Pseudomonas aeruginosa* (2.58%), *Acinetobacter baumannii*(1.93%). (Figura 6).

En este estudio se determinó cual fue el patrón de resistencia de los aislamientos de cepas de *Escherichia coli* con los antibióticos empleados. Se revisó individualmente cada uno de los antibiogramas y se registró la sensibilidad y/o resistencia a los antibióticos empleados. También se determinó cual fueron las cepas productoras de beta lactamasas y en qué porcentaje fueron halladas.

El medicamento frente al cual las cepas de *Escherichia coli* mostraron mayor resistencia fue Trimetropim-sulfametoxazol (75.23%), seguido de Amoxi/Acido clavulanico (68.57%), Ciprofloxacina (45.71%), Cefotaxima (38.09%), Nitrofurantoina (37.14%), Ceftazidima (33.33%). Fosfomicina y Amikacina fueron los antibióticos que presentaron menor resistencia siendo de un 19.04% en cada uno (Figura 9).

Las cefalosporinas de tercera generación ensayada en este estudio, presentaron un porcentaje de resistencia del 38.09 y 33.33 %, para cefotaxime y ceftazidime respectivamente; por lo que podrían considerarse una alternativa válida para el tratamiento empírico de infecciones urinarias, aunque sus tasas de

recurrencias pueden ser mayores debido a su actividad anaerobicida y además es preciso un tratamiento más prolongado que otras opciones antibióticas para lograr la misma eficacia erradicadora y esto podría provocar que el paciente deje de administrarlo y recurra en la infección.

La nitrofurantoína, a pesar de su sensibilidad (63%) y su probada eficacia en el tratamiento de las infecciones del tracto urinario, se emplea muy poco por su potencial toxicidad pulmonar, y quizá por ello el porcentaje de sensibilidad se ha mantenido estable en los últimos años. La nitrofurantoína es un nitrofurano antibacteriano que se utiliza específicamente para el tratamiento de las infecciones urinarias producidas por gérmenes Gram- negativos y por algunos Gram-positivos.

En el caso de la ciprofloxacina, la resistencia encontrada (45.71%), puede deberse al uso indiscriminado de este antibiótico de vía oral. Uno de los mecanismos de resistencia reconocidos a las quinolonas, es la disminución de la permeabilidad de la membrana celular por reducción en las porinas de dicha membrana, lo que trae por consecuencia una baja penetración intracelular del antibiótico y un aumento de la concentración mínima inhibitoria.

En este estudio, la tasa de resistencia a quinolonas fue del 45.71% y según este dato, su uso empírico en infecciones urinarias estaría aceptado y existen estudios que defienden su gran utilidad en el tratamiento empírico de las cistitis no complicadas aun con este porcentaje de resistencia debido fundamentalmente a la alta concentración que alcanza el fármaco en la orina.

Otro factor importante que se tomó en cuenta cuando se registró al agente etiológico, fue si el agente era productor de BLEE (betalactamasa de espectro extendido). De los aislamientos de *Escherichia coli* analizados el 32.38% fueron productores de betalactamasas de espectro extendido. De las muestras con cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) la mayoría pertenecían al sexo femenino que es más afectado en cuanto a infecciones por *E. coli* del tracto urinario (Figuras 7 y 8).

El Imipenem mostró una sensibilidad del 100% en todas las cepas de *Escherichia coli* aisladas en este estudio. La sensibilidad total de este último

antibiótico, confirma su utilidad como droga de elección en el tratamiento de las infecciones causadas por bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

La fosfomicina es una buena alternativa como tratamiento de primera elección dada la excelente sensibilidad de *E. coli* frente a dicho antibiótico observada en el estudio realizado y su baja resistencia (19.04%). (Figura 10).

Según los datos obtenidos en este estudio, el tratamiento empírico de primera elección para las infecciones urinarias extrahospitalarias en esta área sanitaria podría ser Fosfomicina o Amikacina. No se recomendaría como pauta de primera elección el tratamiento con Trimetoprim- sulfametoxazol ni quinolonas por el elevado índice de resistencias que presentaron.

### **2.2.8 Discusión**

El uso de antibacterianos es un paso importante en el tratamiento de las infecciones de vías urinarias y el uso empírico de estos medicamentos es práctica común. Actualmente tenemos que enfocarnos en el problema de las resistencias a antibacterianos que resulta ser cada vez más común. El problema de las resistencias no es un tema nuevo. Desde la implementación de cualquier antibacteriano, el uso de estos medicamentos crea una selección involuntaria por nuestra parte de organismos resistentes o semi-resistentes hasta que resulta que estos organismos se vuelven cada vez más y más comunes. El resultado es una población de microorganismos a los cuales anteriormente se podían combatir con una amplia selección de medicamentos efectivos y baratos, pero que ahora requieren de nuevos fármacos debido a la inefectividad ciertos medicamentos.

El incremento de la aparición y diseminación de estos nuevos microorganismos resistentes depende de nosotros. Aunque es verdad que en la naturaleza ocurren ciertas subpoblaciones de microorganismos que posean cierta resistencia a ciertos fármacos, ha sido la presión evolutiva puesta por nosotros desde la creación de los antibacterianos que ha causado la diseminación de organismos resistentes y multiresistentes. El problema principal se atribuye al mal uso y al sobreuso de antibacterianos (Darquea, 2014).

De acuerdo a las categorías del CDIU los siguientes resultados corresponden a los factores microbiológicos. En este estudio realizado *E. coli* fue la bacteria más frecuentemente aislada, suponiendo el 67.74% del total de urocultivos positivos de pacientes ambulatorios de diferentes zonas de la ciudad de Guayaquil. Estos datos concuerdan con los estudios publicados por Paramos-Rivas en el año 2015 en México donde plantean que el 85% de los aislamientos en urocultivos positivos correspondieron a la cepa *Escherichia coli*. Lo mismo concuerda con el estudio realizado por Betran y colaboradores también en el año 2015 en España donde *E. coli* fue la bacteria más frecuentemente aislada, suponiendo el 61,08% del total de urocultivos positivos que tuvieron en su estudio, siendo este porcentaje similar al encontrado en este estudio.

De los aislamientos de *Escherichia coli* analizados el 32.38% fueron productores de betalactamasas de espectro extendido siendo este un número elevado de cepas productoras de BLEE en el área estudiada. Este resultado muestra que existe una alta tendencia al incremento de cepas de *E. coli* productoras de BLEE provenientes de infecciones del tracto urinario. Datos similares e igual conclusión llegaron Paramo-Rivas y colaboradores en el 2015 en México donde plantearon que existe una tendencia al incremento de cepas productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) multirresistentes a antimicrobianos, en el estudio plantean que la alta prevalencia de *Escherichia coli* urinaria productora de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), muy probablemente sea debido a varios factores, entre ellos el uso indebido y exagerado de antibióticos que contribuye al aumento de cepas bacterianas multirresistentes. Además, la prescripción no adecuada y abusiva de los antibióticos, la prolongación de los planes más allá de lo necesario, la aplicación de dosis no óptimas y la irregularidad en la toma de las drogas, son los principales factores que han llevado a que hoy la tasa de resistencia antimicrobiana sea tan elevada.

En el estudio realizado por Díaz-Monge y colaboradores en el 2015 en Perú donde analizaron un grupo de urocultivos obtuvieron como resultado que el 4,3% de las cepas de *E. coli* aisladas mostró ser productora de betalactamasas de espectro extendido lo cual constituyó una alarma para el personal de infectología debido al incremento de las BLEE en los últimos años ya que en un primer

momento del descubrimiento de las *E. coli* BLEE, su presencia solo se asociaba a brotes en hospitales, específicamente en las áreas de cuidados intensivos y de cirugía, pero ahora están apareciendo en aislamientos de muestras de orina de infecciones urinarias no complicadas lo que pone en alerta al personal médico.

Se conoce que los genes que codifican las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y los que codifican la resistencia a otros antimicrobianos, pueden residir en el mismo plásmido conjugativo y por lo tanto, se transmiten juntos de un microorganismo a otro, confiriendo el perfil de resistencia múltiple, lo cual complica la situación del paciente, ya que se limitan las opciones de tratamiento con antibióticos baratos y efectivos, teniendo que recurrir al uso de antimicrobianos caros tipo carbapenems y de uso intrahospitalario.

La progresiva disminución de la sensibilidad de *Escherichia coli* a los antimicrobianos y la aparición y diseminación de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), motivan que el tratamiento de las infecciones de vías urinarias (IVU) causadas por este microorganismo constituya, en algunos casos, un importante problema terapéutico. Por lo tanto, se hace imprescindible y obligatorio realizar a todo paciente que tenga IVU el cultivo y antibiograma que permita conocer los patrones de resistencia para instaurar el tratamiento adecuado, y así evitar el uso empírico de los antibióticos usados en infecciones urinarias, la aparición de nuevas resistencias y el aumento de cepas productoras de Betalactamasas de espectro extendido. (Morales Parra, 2012)

De acuerdo a las categorías del CDIU los siguientes resultados corresponden a los factores terapéuticos. El imipenem fue el antibiótico que no presentó ninguna resistencia a las cepas de *E. coli* aisladas, este resultado concuerda con el obtenido por Tucto-Succhil en el 2014 en Perú donde no fue encontrada ninguna resistencia a imipenem en todos los aislamientos de *E. coli* realizados en muestra de urocultivo. Este antibiótico se está proponiendo ya que es la alternativa más efectiva cuando aparecen cepas productoras de BLEE. Seguido del imipenem se obtuvo con menor resistencia la amikacina y fosfomicina con un 19,04% de resistencia por lo que se recomienda el uso de estos antibióticos como terapia empírica para las infecciones de vías urinarias por *E. coli*. Estos resultados aunque

con un porcentaje más elevado, son similares a los publicados en el año 2015 por Ana Betran en España donde plantea que aunque ha habido un aumento global de la resistencia de cepas de *E. coli* aisladas en urocultivos procedentes de pacientes ambulatorios a los antibióticos, algunos antimicrobianos como amikacina(8%) y fosfomicina(8%) mantienen un bajo perfil de resistencia y recomiendan el empleo de la Fosfomicina debido a su elevada actividad in vitro (sensibilidad superior al 96%) lo que la convierte en una alternativa de primera línea en el tratamiento empírico de las infecciones de vías urinarias. (Betrán, 2015).

La resistencia mostrada ante Ciprofloxacina (45.71%) viene a constituir un problema de salud ya que este antibiótico además de tener buena actividad contra microorganismos gram negativos, su alta concentración en orina hacen que su uso sea específico para infecciones del tracto urinario. Estos valores se encuentran por debajo de los reportados por Díaz-Monge en el 2015 en Perú donde la prevalencia de resistencia a la ciprofloxacina en cepas de *E. coli* aisladas en muestras de orina supuso el 60 %, concordando los datos con otros estudios realizados en España, donde encuentran 60% de resistencia a quinolonas. Estos resultados podrían entenderse que no se están tomando las correctas medidas de prevención para disminuir el aumento de resistencia a antibióticos.

Los medicamentos frente a los cuales las cepas de *Escherichia coli* mostraron mayor resistencia en el estudio realizado fueron Trimetropim-sulfametoxazol (75.23%), seguido de Amoxicilina/ ácido clavulánico (68.57%), la alta resistencia probablemente sea debida al uso empírico que se le ha dado a estos antimicrobianos, por lo tanto, no estarían indicados para tratamiento de esta patología. Estos resultados concuerdan con lo planteado por Ana Betran en el 2015 en España donde plantea que Trimetropim-sulfametoxazol y Amoxicilina-ácido clavulánico comenzarían, a no ser recomendable para el tratamiento empírico de la infección urinaria en el ámbito comunitario. (Betrán, 2015).

Además los resultados están en perfecta concordancia con algunos trabajos anteriormente reportados como es el caso de Tucto-Succhil en Perú en 2014 donde plantea que la amoxicilina-ácido clavulánico ha sido utilizada como

antibiótico de primera línea para la infección del tracto urinario en niños. (Tucto-Succhil & Pedro Mercado-Martínez, 2014).

Sin embargo, el incremento en la prevalencia de resistencia en *E. coli* uropatógena la ha convertido en una opción menos aceptable y la resistencia a trimetoprim sulfametoxazol supera el 74%. La tasa de resistencia a Trimetoprim-sulfametoxazol encontrada en este estudio es muy elevada, lo que coincide con otros reportes en diferentes países, como el caso de España descrito por Mensa y colaboradores en el 2014 donde esta se encuentra entre 20-35%. Este es un fármaco que debería ser considerado como una terapia empírica para infecciones del tracto urinario por *Escherichia coli*, por su seguridad y bajo costo, sin embargo, debido a las elevadas tasas de resistencia encontradas en este estudio, su uso como tratamiento empírico sería poco recomendable. (Mensa J, 2014)

El mecanismo más relevante de resistencia al trimetoprim-sulfametoxazol es la presencia de plásmidos codificadores de dihidrofolato reductasas diferentes de la original y que escapan a la acción del antimicrobiano, aunque también hay resistencias por sobreproducción de la enzima o por disminución de la permeabilidad. En este estudio la resistencia al trimetoprim-sulfametoxazol es del 75.23% por lo que no se recomienda como antibiótico de elección.

De acuerdo a las categorías del CDIU los siguientes resultados corresponden a los factores biológicos. En el estudio presentado el sexo femenino fue el más afectado. La alta prevalencia de *Escherichia coli* en mujeres era de esperarse y reconfirma lo referenciado por la literatura acerca de la recurrencia de las infecciones urinarias con mayor frecuencia en este sexo. Estas infecciones prevalecen en mujeres sexualmente activas, sin enfermedades de base ni anomalías del tracto urinario. Los resultados de este trabajo concuerdan con los referenciados por Darquea en el 2014 en Quito, donde se reporta prevalencia de infecciones urinarias en el sexo femenino. (Figura 8).

Estos datos coinciden de igual forma con lo reportado por Díaz-Monge en el 2015 en Perú. Esta patología afecta en mayor proporción a las mujeres debido a que éstas tienen una mayor cantidad de factores predisponentes, en especial la uretra más corta. La actividad sexual aumenta la posibilidad de contaminación bacteriana de la uretra, así como el uso de diafragma, cualquier modificación de

la flora vaginal habitual o el embarazo producen alteraciones anatómicas y hormonales que favorecen el desarrollo de infecciones del tracto urinario.

Además, se estima que una de cada tres mujeres será diagnosticada de infecciones del tracto urinario antes de los 24 años y que el 40 a 50% de las mujeres experimentaran al menos un episodio de infección del tracto urinario durante su vida.

## SOLUCION PROPUESTA

Una de las principales causas del aumento de la resistencia a los antibióticos es el mal uso o uso indiscriminado de los mismos, sobre todo en infecciones no complicadas como es el caso de las infecciones de vías urinarias, donde el patógeno de mayor incidencia son las enterobacterias, en especial las *E. coli*. En el sector de la salud se trabaja cada día con el objetivo claro de reducir estas resistencias que continúan apareciendo. Una de las principales medidas que debemos tomar es el prescribir los antibióticos de forma adecuada. Para ello es importante que se establezcan protocolos o procedimientos en los laboratorios que apoyen la labor del clínico.

Para ello se propone realizar urocultivos a las muestras de orina y entregar una identificación rápida y oportuna al médico para que pueda prescribir un antibiótico basado en la identificación y la clínica del paciente. Realizar el examen y se entrega el reporte en función del crecimiento o no de algún germen. Este proceso se basa en la identificación y el número de bacterias que puede estar presente en la orina, para lo cual se realiza un recuento bacteriano empleando para la siembra un asa calibrada, y se realiza la identificación de las bacterias en equipos automatizados como el caso del Maldi-Tof y realizar los controles de calidad de los equipos, medios de cultivos y reactivos empleados en el análisis de los urocultivos.

Se recomienda la entrega de información sobre las condiciones en las que debe ser recogida la muestra y el tiempo máximo que debe transcurrir desde su recogida hasta la llegada al laboratorio y su procesamiento ya que este es un factor que influye en la calidad del reporte entregado.

Elegir un medio de cultivo apropiado según la muestra, el medio Agar sangre y Agar Mac Conkey son los más sugeridos por permitir la recuperación de la mayoría de los patógenos que colonizan el tracto urinario y permiten la caracterización de los mismos por la forma de la colonia, el color y el cambio del medio.

La elección de los antibióticos que van a ser empleados para la realización del antibiograma es otro de los aspectos importantes que se deben tener en cuenta ya

que este es un dato que resulta esencial para la orientación del médico tratante en el proceso infeccioso.

Emplear la prueba de difusión del disco es una opción viable para laboratorios de baja complejidad y sugiere valores reales y confiables, es sugerida en la norma CLSI y es un método económico, sencillo y fácil de realizar en los laboratorios de rutina y los resultados obtenidos son de gran valor clínico para iniciar, mantener o modificar una antibioticoterapia. Permite al técnico identificar los mecanismos de resistencia que presenta el patógeno y establecer cuales antibióticos deben ser sugeridos para el tratamiento y cuáles no debido a la resistencia que estén presentando.

Para la realización de los antibiogramas de cepas *E.coli* que sean aisladas de muestras de orinas a las cuales se les realizo el urocultivo se sugiere el uso de los siguientes antibióticos Fosfomicina, Amikacina, Cefotaxima, Ceftazidima, Nitrofurantoina, Imipenem, Ciprofloxacina, Amoxicilina/ Acido Clavulánico.

Para la detección de BLEE se sugiere e método de tamizaje según CLSI. 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 se someten a las pruebas confirmatorias para lo cual se sugiere el método de Jarlier del Comité de la Sociedad Francesa de Microbiología. 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.

## CONCLUSIONES

El microorganismo más frecuente en las infecciones urinarias no complicadas en muestras de orina analizadas en el Centro de Investigación Microbiológica correspondió a *Escherichia coli*.

El antibiótico frente al cual se presentó mayor resistencia en las cepas de *E. coli* aisladas fue el Trimetropin/sulfametoxazol, siendo los de menor resistencia la Amikacina y Fosfomicina.

El sexo con mayor incidencia de infecciones urinarias no complicadas por *E. coli* correspondió al sexo femenino.

Debido a que las causas de resistencia son múltiples, es factible la conclusión de que la sensibilidad/ resistencia de los microorganismos sea muy diferente dependiendo de la población, lugar geográfico y época en la cual nos encontremos.

## RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta el elevado porcentaje de resistencia bacteriana a los antibióticos considerados de primera línea, se recomienda la búsqueda de nuevas alternativas, y el uso de antibióticos como la Fosfomicina. Según los datos obtenidos en este estudio, el tratamiento empírico de primera elección para las ITU en nuestra área sanitaria podría ser Amikacina, Fosfomicina.

Tomar conciencia en uso racional de los antibióticos para el tratamiento de infecciones urinarias no complicadas para disminuir el índice de resistencia a los antibióticos.

Realizar un estudio más amplio y con mayor número de pacientes para generar nuevas conductas terapéuticas. No se recomendaría como pauta de primera elección el tratamiento con Trimetoprim-sulfametoxazol ni quinolonas por el elevado índice de resistencias que presentaron.

## BIBLIOGRAFIA

- Betrán, A. C. (2015). Evaluación de la resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Barbastro (Huesca). *Quimioter*, 263-266.
- Castro-Orozco Raimundo, A. C.-M.-Á. (2010). Patrones de resistencia antimicrobiana en uropatogenos gramnegativos aislados de pacientes ambulatorios y hospitalizados Cartagena, 2005-2008. *Salud Publica*, 12(6).
- Darquea, L. D. (2014). Tratamiento empírico de elección para infecciones de vías urinarias no complicadas en pacientes adultos de la consulta externa del hospital de los valles y su correlación con el patrón epidemiológico de la resistencia antimicrobiana. Quito.
- Diaz-Monge, W. A.-P.-L.-S. (2015). Prevalencia de *Escherichia coli* BLEE y otras resistencias en urocultivos en un hospital general ica, Peru. *Rev méd panacea.*, 5(1): 20-24.
- Figuroa E, T. (2012). Infecciones del tracto urinario. *medicina clinica*.
- García, P. F. (2012). Identificación bacteriana basada en el espectro de masas de proteínas: Una nueva mirada a la microbiología del siglo XXI. *Rev Chilena Infectol* 29 (3), 263-272.
- Inés, M. P. (2012). Betalactamasas de espectro extendido y patrón de resistencia de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos en un hospital público de la ciudad de Valledupar-2011. Valledupar.
- Jeon, J. H. (2012). Empirical Use of Ciprofloxacin for Acute Uncomplicated Pyelonephritis. Caused by *Escherichia Coli* in Communities Where

- thePrevalence of Fluoroquinolone Resistance Is High. . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(6).
- Lee, D. S.-S. (2013). *Antimicrobial Susceptibility Pattern and Epidemiology of Female UrinaryTract Infections in Korea (2010-2011)*. Korea: Antimicrobial Agents and Chemotherapy (AAC).
- Lo, D. S. (2013). Community-acquired urinary tract infection: age and gender-dependent etiology. *J. Bras. Nefrol*, 93-98.
- Manikandan S, G. S. (2011). Emerging of Multidrug Resistance Human Pathogens from Urinary Tract Infections. *Current Research in Bacteriology*, 9-15.
- Manikandan S, G. S. (2011). Antimicrobial Sensibility pattern of Urinary Tract Infection Causing Human Phatology. *Asian Journal of Medical Sciences*, 56-60.
- Mensa J, G. J.-S.-S. (2014). *Guía de terapéutica antimicrobiana 2014*. . Huesca: Editorial An- tares.
- Morales Parra, G. I. (2012). Betalactamasas de espectro extendido y patrón de resistencia de Escherichia coli aisladas de urocultivos en un hospital público de la ciudad de Valledupar-2011. *Medical clinical*, 21-25.
- Nimri L, B. R. (2010). Community-Aquired Urinary Tract Infections in Rural Area: Predominant Uropathogens, and their Antimicrobial Resistance. . *Webmed Central Microbiology*, 1(9).
- Páramo-Rivas F, T.-S. A.-M. (2015). Resistencia antimicrobiana en pacientes con infección de vías urinarias hospitalizados en el servicio de Medicina Interna del Nuevo Sanatorio Durango, de enero a diciembre de 2013. *Med Int Méx* , 31:34.

- Rendon, M., Reyes, A., Binet, J., & F., R. (2012). Infecciones de vías urinarias. Patrón de resistencia in vitro de E. coli y E. coli ESBL a quinolonas, trimetoprima-sulfametoxazol y nitrofurantoina. . *Med Int Mex*, 434-439.
- Rosa, M. (25 de enero de 2012). *creative commons*. Obtenido de creative commons: [www.wikispaces.com](http://www.wikispaces.com)
- Schaeffer Anthony J. MD I. Schaeffer Edward M., M. P. (2012). *Campbell- Walsh Urology*. Filadelfia: Editorial Saunder Décima Edición.
- Tucto-Succhil, S., & Pedro Mercado-Martínez, T. H.-E. (2014). Resistencia Bacteriana según MIC 90 de Escherichia coli uropatógena aislada en el Laboratorio de Microbiología del Hospital II Chocope-EsSalud (Perú). *REBIOLEST*, 2(1):e26.
- Velasco, A. M. (2010). Factores predictores de infección urinaria bacteriémica por Escherichia coliproductor de betalactamasas de espectro extendido. *Medicina clinica*, Vol. 134. Núm. 09.
- Vellinga, A. a. (2012). Trimethoprim and Ciprofloxacin Resistance and Prescribing in Urinary Tract Infection Associated with Escherichia Coli: A Multilevel Model. *J Antimicrob Chemother*, 67.

# ANEXOS

**Figura 1.**

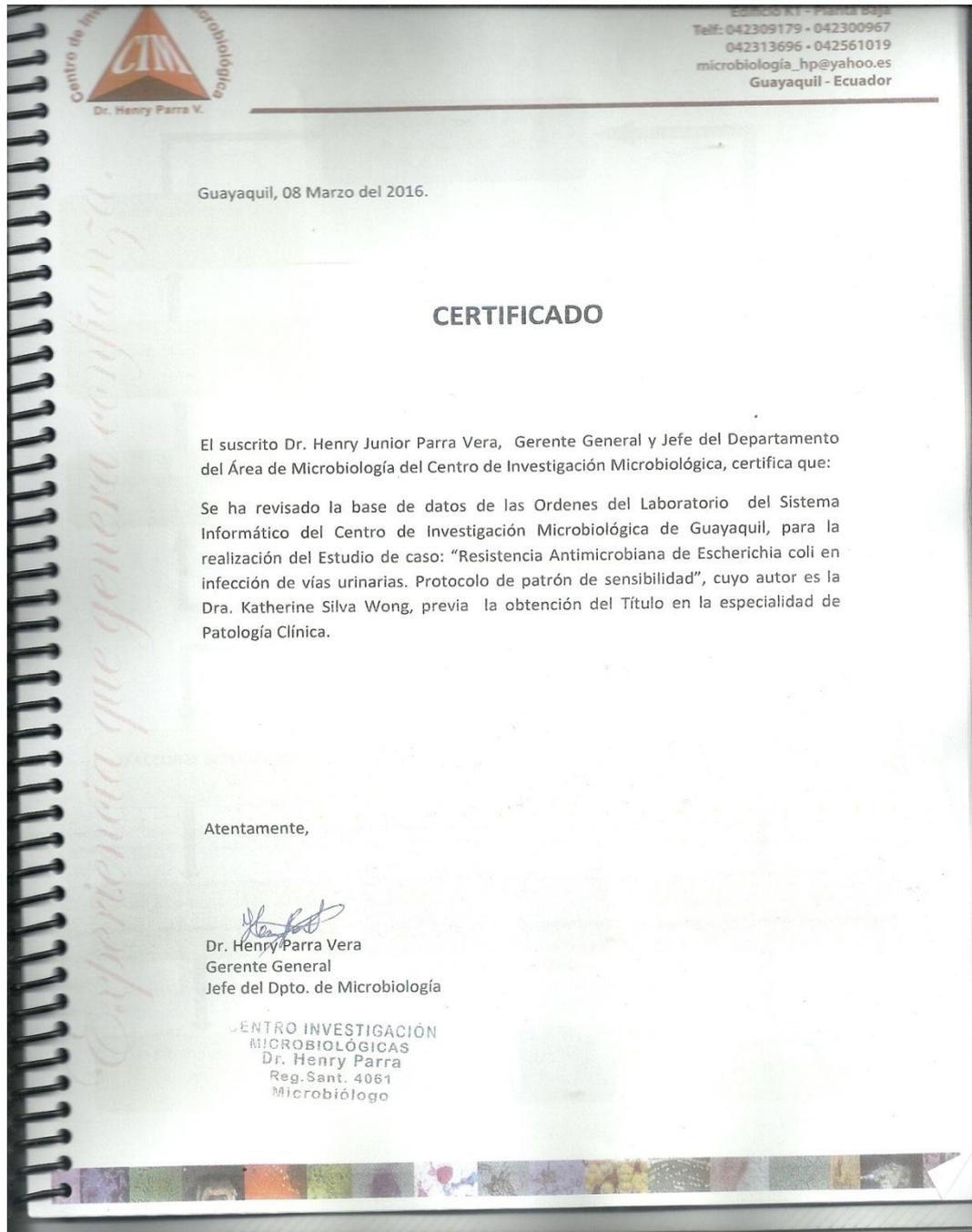
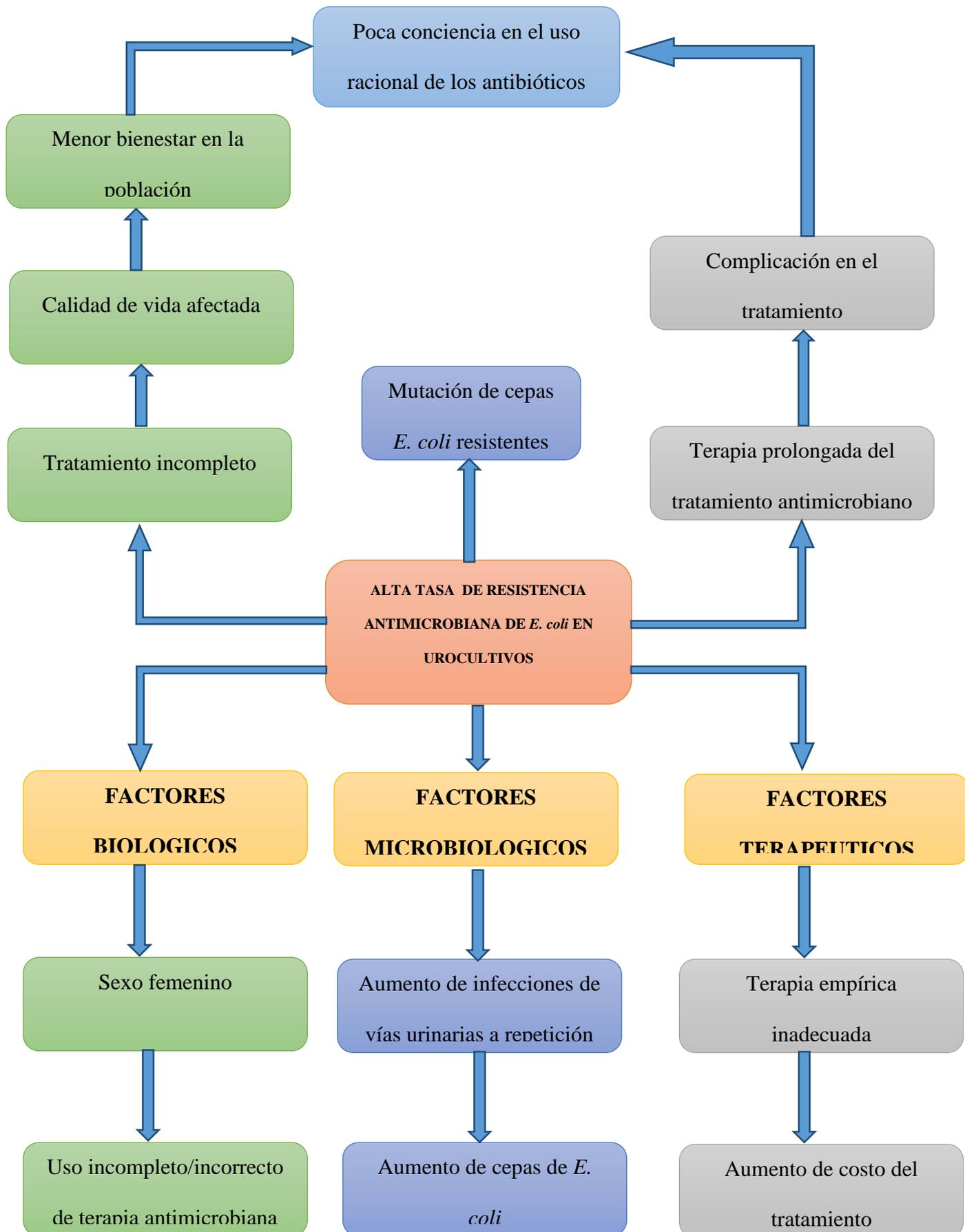


Figura 2. Árbol de problemas



**Tabla 1 Desarrollo del CDIU**

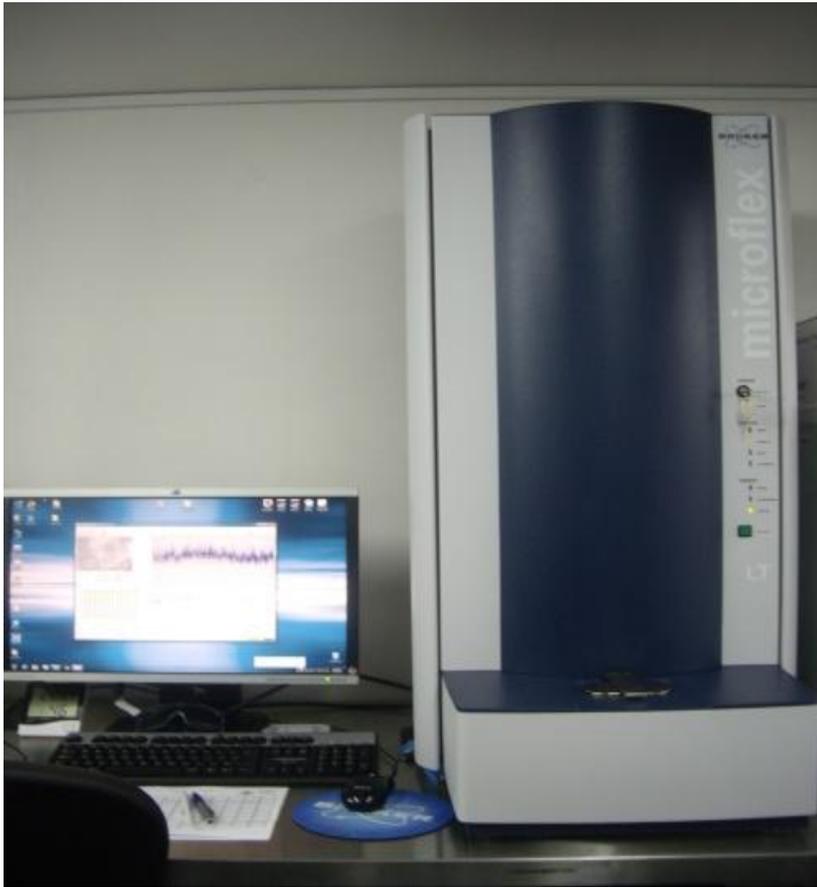
CATEGORÍA	DIMENSIONES	INSTRUMENTOS	UNIDAD DE ANALISIS
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
Sexo femenino Terapia antimicrobiana Incorrecta e incompleta	Resistencia de <i>E. coli</i> en urocultivos	Orden medica Solicitud examen de laboratorio	Centro de Investigación Microbiológica
<b>FACTORES MICROBIOLÓGICOS</b>			
Aumento de infecciones a repetición  Incremento de cepas <i>E. coli</i> resistentes	Resistencia de <i>E. coli</i> en urocultivos	Información base de datos estadística	Centro de Investigación Microbiológica
<b>FACTORES TERAPÉUTICOS</b>			
Terapia empírica inadecuada  Aumento del costo de tratamiento	Resistencia de <i>E. coli</i> en urocultivos	Orden medica	Centro de Investigación Microbiológica

**Tabla 2 Difusión de discos**

DIFUSIÓN CON DISCOS			
CRIBADO		CONFIRMACIÓN	
Antibiótico (carga)	Criterio	Antibiótico (carga)	Criterio
<b>Cefotaxima (CTX)</b>	$\leq 27$ mm	<b>Cefotaxima + Ac. Clavulánico (CTX/CXT-CLA)</b>	Aumento $\geq 5$ mm en la diferencia de
<b>Ceftazidima (CAZ)</b>	$\leq 22$ mm	<b>Ceftazidima + Ac. Clavulánico (CAZ/CAZ-CLA)</b>	los halos

**Tabla 3 Discos de sensibilidad antimicrobiana**

<b>DISCOS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA PARA <i>E. COLI</i> EN UROCULTIVOS</b>		
<b>SÍMBOLO DEL ANTIBIÓTICO</b>	<b>NOMBRE DEL ANTIBIÓTICO</b>	<b>CRITERIO (mm)</b>
F 300	Nitrofurantoína	≥ 17
FOS 200	Fosfomicina	>16
CIP 5	Ciprofloxacina	≥ 21
CAZ 30	Ceftazidima	>21
CTX 30	Cefotaxime	≥ 18
IIMP 10	Imipenem	>23
AK 30	Amikacina	>17
AMC 30	Amoxicilina + Ac. Clavulánico	≥ 18



**Figura 3 Equipo MALDI TOF**

Manual de Técnicas en Microbiología Clínica de M.V. Álvarez – E- Boquet, dirigido por E. Boquet

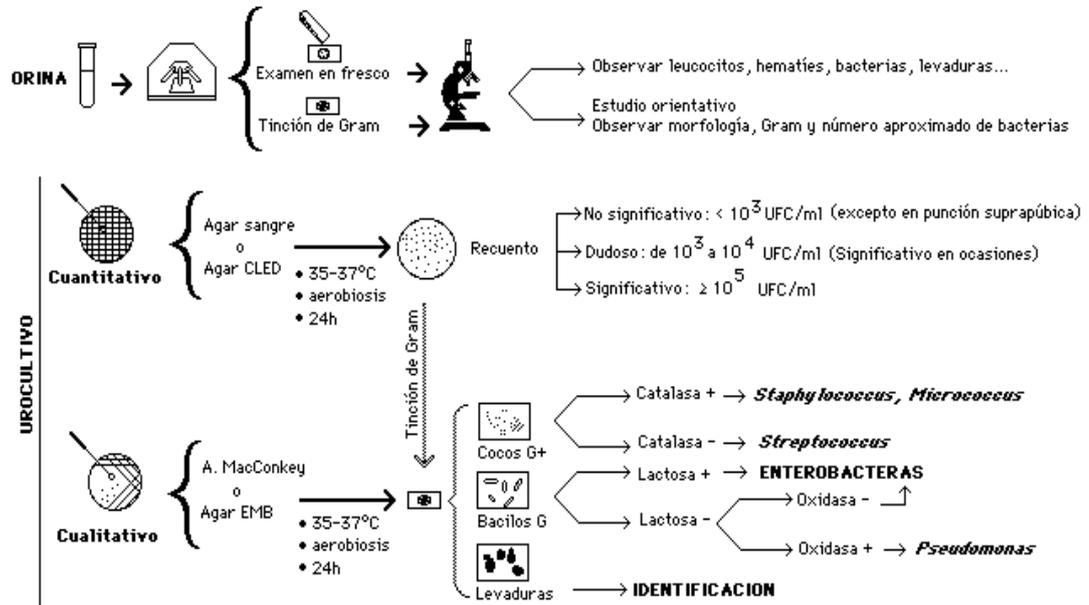


Figura 11 Esquema de siembra microbiológica

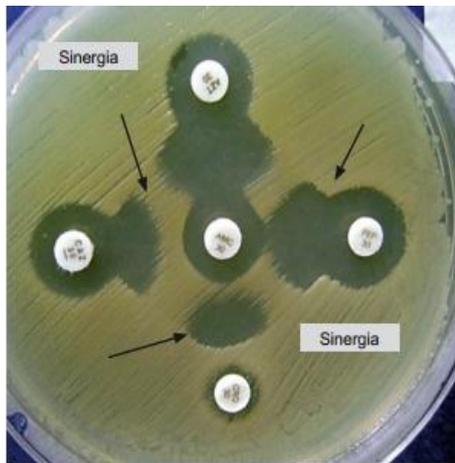


Figura 2. Método del doble disco para la detección de BLEE. Obsérvese el efecto sinérgico (tapón de corcho o distorsión de los halos de inhibición) (como indica la flecha) que se produce entre los discos de ceftriazona (CRO), cefepime (FEP), ceftazidima (CAZ) y aztreonam (AZM) con el disco central de amoxicilina/ácido clavulánico (AMC) Confirmación de la presencia de BLEE.

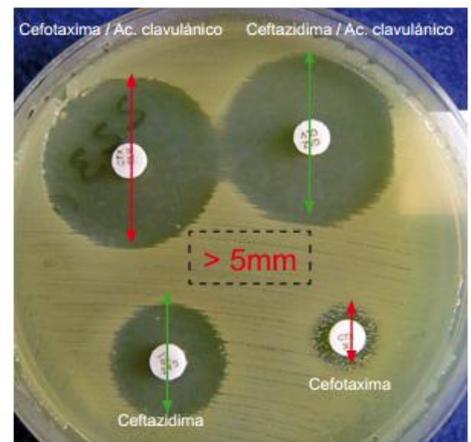


Figura 1. Prueba de disco combinado para la detección de BLEE. Se observa que la diferencia del halo de inhibición entre el disco de ceftazidima (19 mm) y el de ceftazidima/ácido clavulánico (30 mm) es de 11 mm, y la diferencia entre los discos de cefotaxima (8 mm) y cefotaxima/ ácido clavulánico (29 mm) es de 21 mm. Una diferencia mayor de 5 mm nos confirma la presencia de BLEE.

Figura 12. Detección y confirmación de *E.coli* BLEE

**RIM-ADM-02 Versión 2-2015** # ORDEN GUIA DE REMISION

FECHA DE RECIBIR: \_\_\_\_\_ CODIGO \_\_\_\_\_

NOMBRE: \_\_\_\_\_ EDAD \_\_\_\_\_ HORA ING. \_\_\_\_\_

MUESTRA DE: \_\_\_\_\_ ORINA \_\_\_\_\_ Nº CEDULA \_\_\_\_\_ DOCTOR: \_\_\_\_\_

PROCEDENCIA \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

---

**LISTADO DE EXAMENES**

COD	NOMBRE	COD	NOMBRE
	CULTIVO Y ATB		

---

**OBSERVACION MICROSCOPICA DIRECTA**

GRAM DIRECTO	RESULTADO OTRAS PRUEBAS
PMN _____	<b>MICROSCOPIA</b>
Bacilos (+) (-) _____	Bacterias _____
Coco Bacilos (-) _____	Células epiteliales _____
Bacilo (+) (-) _____	Piociptos _____
Diplococos (+) (-) _____	Leucocitos _____
Levaduras _____	Hemates _____
Cell. Epiteliales _____	Cilindros _____
No se observan bacterias _____	Cristales _____
	Filamentos: _____

FIRMA \_\_\_\_\_

**FISICO-QUIMICO**

Color/aspecto: \_\_\_\_\_

Densidad: \_\_\_\_\_ pH \_\_\_\_\_

Nitritos: \_\_\_\_\_

Leucocitos: \_\_\_\_\_

Sangre: \_\_\_\_\_

Proteinas: \_\_\_\_\_

Glucosa: \_\_\_\_\_

Cetonas: \_\_\_\_\_

Urobilinogeno: \_\_\_\_\_

T. Ziehl Neelsen \_\_\_\_\_ BAAR \_\_\_\_\_

Investigación de hongos KOH: \_\_\_\_\_

GRAM DEL CULTIVO: \_\_\_\_\_ CUANTITATIVO: \_\_\_\_\_ x 10

OBSERVACION: \_\_\_\_\_

Microorganismo Aislado:

1.- \_\_\_\_\_

2.- \_\_\_\_\_

	1	2	3		1	2	3		1	2	3
GRAM				Norfloxacina				Pip / tazo			
Antamicina				Cloranfenicol				Oxa/Cl			
Cosfomicina				Nitrofurantoina				Eritromicina			
Ampicilina				A. Nalidixico				Linezolina			
AT				Amikacina				Vancomicina			
Amoxi/Clavulánico				Ciprofloxacina				Clindamicina			
Ceftriaxona				Cefuroxima				Colistina			
Ertapenem				Ceftazidima				Estreptomicina			
Imipenem				Cefotaxima				Aztreomicina			
Meropenem				Minociclina				Amoxicilina			

PROCESADO POR: \_\_\_\_\_ FECHA DE SALIDA \_\_\_\_\_

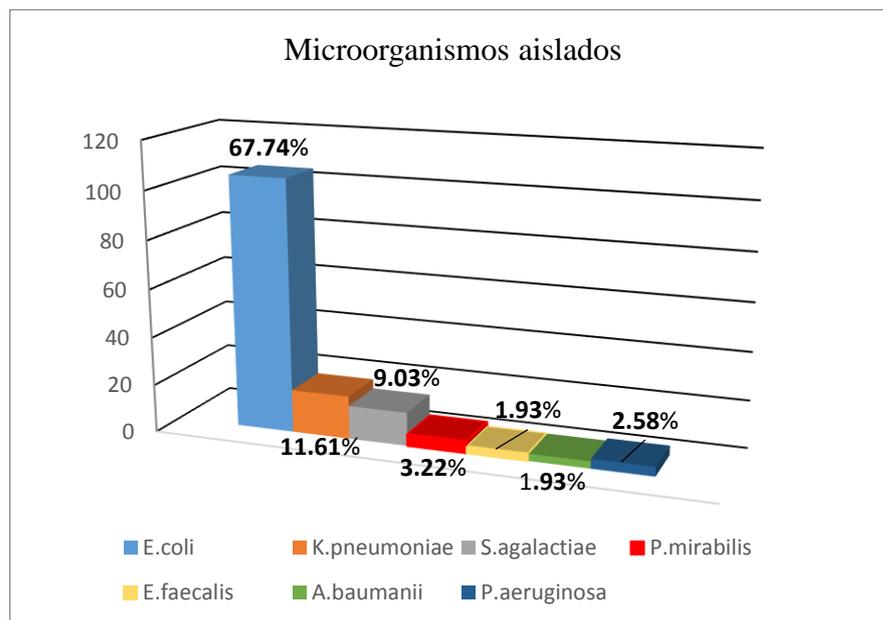
**REPORTE**

TIPO INFORME ENVIADO \_\_\_\_\_ VERIFICADO \_\_\_\_\_ REVISADO \_\_\_\_\_

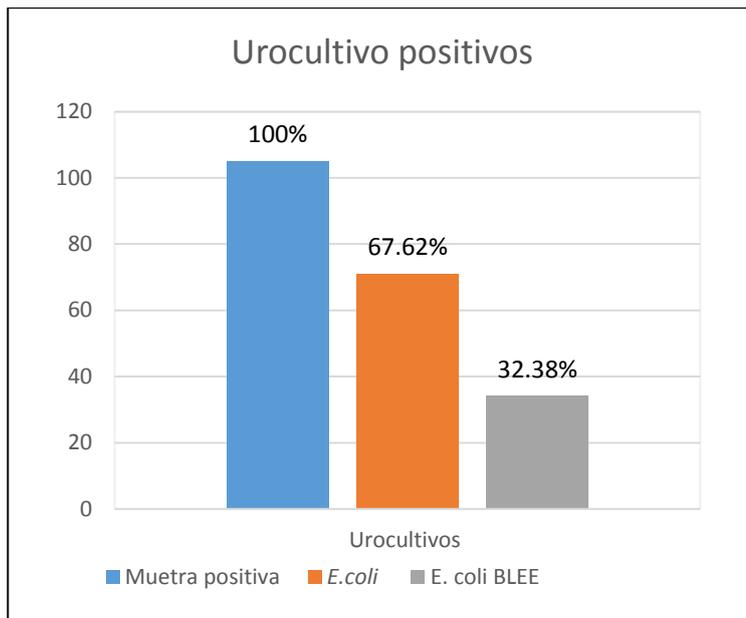
PRE \_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_

FINAL \_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_

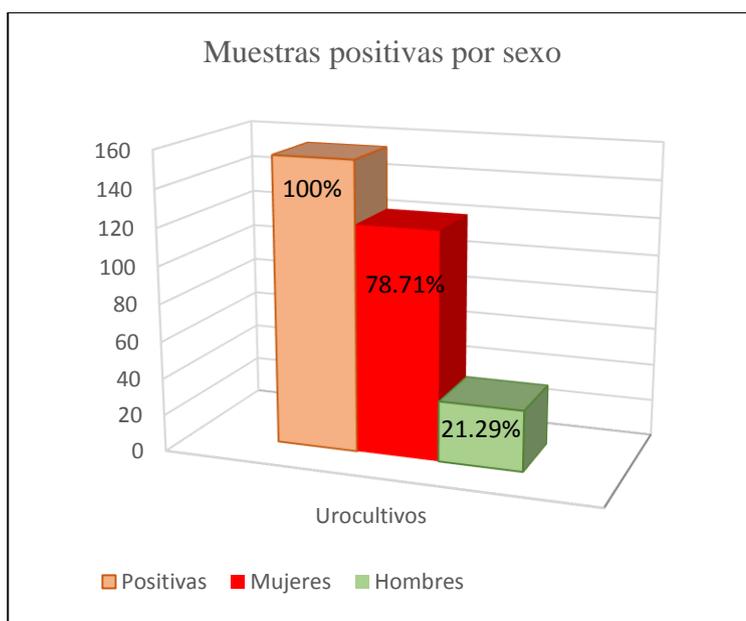
**Figura 5.-**



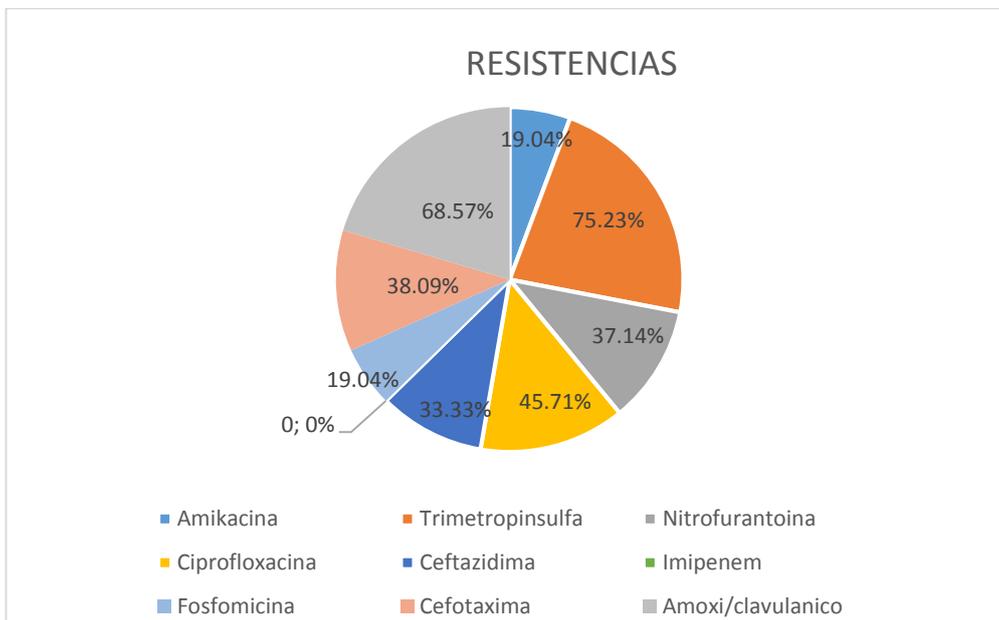
**Figura 6 Microorganismos aislados**



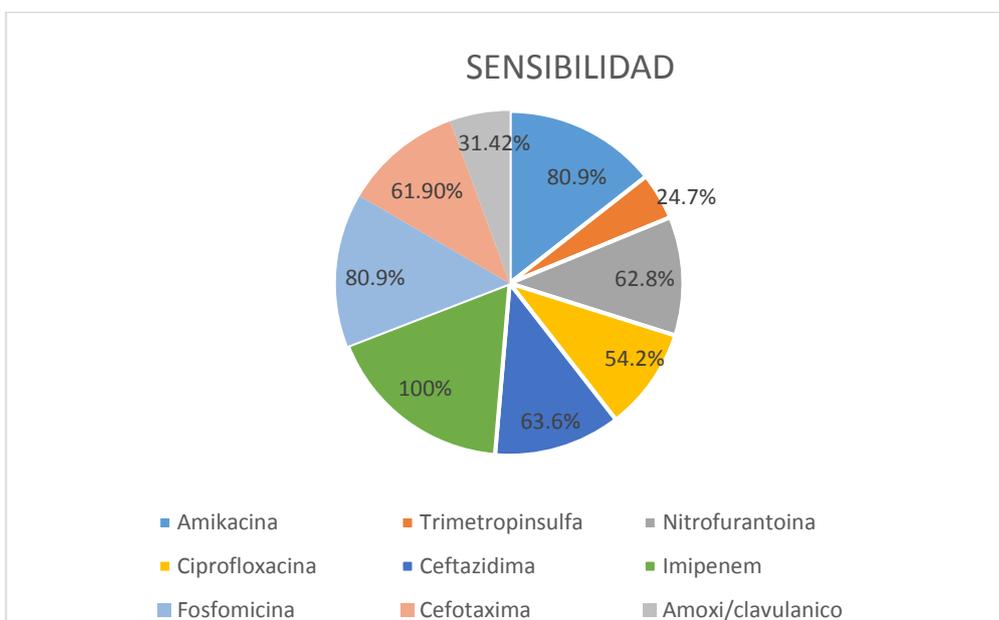
**Figura 7 Urocultivos positivos**



**Figura 8 Muestras positivas diferenciadas por sexo**



**Figura 9. Resistencias**



**Figura 10. Sensibilidad**

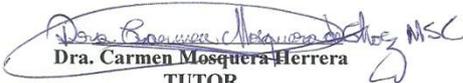
Guayaquil 17 de Marzo del 2016

### **CERTIFICADO DE PLAGIO**

Dra. CARMEN MOSQUERA HERRERA tutora del estudio de caso, a petición de la parte interesada. **CERTIFICO:** Que el presente trabajo de investigación de estudio de caso para la obtención del grado de Especialista en PATOLOGIA CLINICA otorgado por la Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias médicas de la Universidad de Guayaquil, presentada por la Dra. GILDA KATHERINE SILVA WONG con cédula de identidad 0916681158, tema: **“RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE ESCHERICHIA coli EN INFECCIONES DE VIAS URINARIAS. PROTOCOLO DE PATRON DE SENSIBILIDAD”**, fue sometido al análisis de software anti plagio AntiPlagiarism.NET; cuyo resultado es del 4 % en cuanto a coincidencias con otras publicaciones, el cual se encuentra dentro de los parámetros establecidos para la titulación.

Certificación que confiero para los fines pertinentes.

**Atentamente**

  
**Dra. Carmen Mosquera Herrera**  
**TUTOR**

Introducción

PROTOCOLO DE PATRON DE  
SENSIBILIDAD DE  
*ESCHERICHIA COLI* EN  
UROCULTIVOS

	Nombre	Firma	Fecha
Elaborado por	Dra. Katherine Silva Wong		15-03-2016
Aprobado por	Dr. Henry Parra Vera		15-03-2016

CENTRO INVESTIGACION  
MICROBIOLÓGICAS  
Dr. Henry Parra  
Reg. Sant. 4061  
Microbiólogo

## Introducción

El urocultivo no es más que el cultivo de una muestra de orina para descartar o diagnosticar una infección sintomática o asintomática del tracto urinario por bacterias. Se realiza el examen y se entrega el reporte en función del crecimiento o no de algún germen. Se basa en la identificación y el número de bacterias que pueden estar presentes en la orina, para lo cual se realiza un recuento bacteriano empleando para la siembra un asa calibrada, y se realiza la identificación de las bacterias en equipos automatizados como el caso del Maldi Tof.

Es importante para realizar el procesamiento de un urocultivo que el laboratorio cuente con toda la información necesaria para poder procesar la muestra, en específico la identificación del paciente y de la muestra.

Es importante que el personal que labora en la realización de los urocultivos este entrenado en las técnicas y metodologías para su realización. Si bien es importante y de ayuda la experiencia que tengan por los años de trabajo en estas áreas, el laboratorio de microbiología debe contar con metodologías y técnicas actualizadas en base a las normas y criterios establecidos por las entidades reguladoras. El seguimiento para la realización de los test de sensibilidad para los aislamientos obtenidos de los criterios de la CLSI es fundamental para mantener la credibilidad de los reportes emitidos por el laboratorio.

El control de calidad también es un aspecto importante en los laboratorios de microbiología y los exámenes de urocultivos no se quedan atrás. El control de las cepas ATCC empleadas en la validación de los medios de cultivo y reactivos, así como la validación de los equipos y discos de antibióticos empleados en la realización del examen son aspectos que se deben controlar y registrar en todos los laboratorios.

*Experiencia que genera confianza.*

## **Política de calidad**

El Laboratorio Centro de Investigación Microbiológica, con profesionales especializados y en permanente actualización, ofrece servicios de diagnóstico clínico-microbiológico, asegurando cada una de las actividades que afectan de forma directa o indirecta a la calidad de los mismos, con el objetivo claro de conseguir la satisfacción y confianza de nuestros clientes, siendo la mejora continua el compromiso permanente para alcanzar la eficiencia y eficacia.

## **Misión**

La misión de Centro de Investigación Microbiológicas es ofrecer un servicio en el laboratorio clínico-microbiológico y molecular a la Sociedad Ecuatoriana con profesionalismo, rapidez, responsabilidad, amabilidad y buen trato y sin discriminación a sus clientes, ofertando resultados clínicamente útiles para el cuidado de la salud, apoyado en un Sistema de Gestión de la Calidad.

## **Visión**

Ser una Empresa Líder y la referencia inmediata para proveer a nivel regional servicios de diagnóstico microbiológicos y de biología molecular con los más altos estándares de calidad mediante tecnología de vanguardia. Mantener la certificación con la Norma ISO 9001:2008. Llegar en un mediano plazo a una acreditación con la Norma ISO 15189, para lo cual mantiene una capacitación continua y controles internos de calidad.

## Objetivo

Asegurar un adecuado procedimiento del análisis de las muestras de orina para apoyar al médico en su diagnóstico. Establecer la metodología más sencilla y eficiente para la realización de los urocultivos y entregar resultados confiables en el menor tiempo.

## Objetivos Específicos

1. Contar con un procedimiento claro para la realización de los urocultivos
2. Conocer los criterios que permiten escoger adecuadamente los discos de antibióticos a probar en un antibiograma.
3. Interpretar y elaborar correctamente el reporte de un antibiograma

## Propósito del examen

Determinar en un examen de orina si presenta infección bacteriana e identificar con exactitud y precisión el agente microbiano que está causando la infección, y además determinar por medio del antibiograma los medicamentos que se debe ingerir para contrarrestar la infección.

## Equipo

- ✓ Incubadoras
- ✓ Microscopio
- ✓ Maldi Tof

## Procedimiento identificación

La identificación del germen se realiza mediante el equipo Maldi Tof, para ello se toma una colonia de un cultivo joven de 8 a 10 horas de crecimiento y se coloca en la placa del Maldi Tof, se le agrega una gota del Matriz y se procede a colocar en el equipo y correr la identificación, lo que tarda unos 2 minutos.

## Procedimiento para el antibiograma

Mediante el crecimiento en el medio Agar Mac Conkey o Agar Sangre se toma una colonia y se realiza la identificación del microorganismo causante de la enfermedad según el instructivo de trabajo del equipo Maldi Tof.

Para el estudio microbiológico de la orina y el urocultivo nos basamos en el

### Antibiograma

El método utilizado con mayor frecuencia para evaluar la sensibilidad de las bacterias a los agentes antimicrobianos es la denominada prueba de difusión del disco. Esta técnica fue estandarizada por Kirby y Bauer en 1966, de allí que dicho método también se le conozca con el nombre "prueba de Kirby-Bauer". Es un método económico, sencillo y fácil de realizar en los laboratorios de rutina que sólo brinda información cualitativa sobre la sensibilidad de un microorganismo a un antibiótico determinado.

Sin embargo, los resultados obtenidos son de gran valor clínico para iniciar, mantener o modificar una antibioticoterapia.

En esta técnica de difusión en Agar Müller Hinton

- ✓ Tomar con un hisopo estéril colonias del cultivo y colocar en un tubo con agua solución salina estéril.
- ✓ Preparar una disolución de concentración bacteriana conocida, concretamente de  $10^8$  ufc/ml, que corresponde con el 0,5 Mc Farland.
- ✓ Se introducirá un hisopo de algodón estéril dentro del tubo que contiene el inóculo estandarizado al paso anterior. El exceso de líquido se eliminará haciendo rotar suavemente el hisopo contra las paredes del tubo.
- ✓ Sembrar con el hisopo de forma homogénea en placas con medio Müller Hinton en tres direcciones horizontal, vertical y diagonal por toda la placa y al final pasar el hisopo por la circunferencia de la placa. El Agar será controlado para cumplir con sus propiedades y el control de calidad.

- ✓ Se colocarán con una pinza estéril hasta un máximo de 6 discos de antibióticos en forma equidistantes, presionándolos suavemente contra la superficie de agar.

**Agente Patogeno**

*Escherichia coli*

**Antibiótico Recomendado**

Fosfomicina

Amikacina

Cefotaxima

Ceftazidima

Nitrofurantoina

Imipenem

Ciprofloxacina

Amoxicilina/ Clavulánico

- ✓ Incubar las placas 24 horas a 37 °C.  
✓ Realizar la lectura de los resultados.

Para determinar si un antibiótico es sensible o resistente se basa en la siguiente tabla referida a CLSI para enterobacterias en urocultivo.

**Detección de BLEE**

**Método de tamizaje para detección de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido según CLSI**

Realizado por el método de disco difusión en Agar Müller Hinton, mediante la técnica de Bauer y Kirby; se utiliza discos de susceptibilidad antimicrobiana de ATM (30  $\mu$ g), CTX (30  $\mu$ g), CAZ (30  $\mu$ g) y CRO (30  $\mu$ g); se utiliza como criterios de sospecha los diámetros: ATM  $\leq$  27 mm; CTX  $\leq$  27 mm; CAZ  $\leq$  22 mm; y CRO  $\leq$  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 se someten a las pruebas confirmatorias.

### **Test confirmatorio BLEE - Método de Jarlier (Comité de la Sociedad Francesa de Microbiología)**

Las placas de Agar Müller Hinton se inoculan 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 (AMC) (20/10µg) en el centro de una placa de Petri con Agar Müller Hinton y alrededor, a 25 mm de distancia, discos de Ceftazidima, CAZ (30 µg/dL); Cefotaxima, CTX (30 µg) y Cefepime, FEP (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.

### **Test confirmatorio BLEE - CLSI (método americano)**

Las placas de Agar Müller Hinton son inoculadas con las cepas sospechosas, para ello se sigue las recomendaciones del CLSI, colocando discos de susceptibilidad antimicrobiana CAZ (30 µg), Ceftazidima/ácido clavulánico (CAZ/CAZ-CLA) (30/10 µg), CTX (30 µg), Cefotaxima/ácido Clavulánico (CTX/CXT-CLA) (30/10 µg).

Una diferencia mayor o igual a 5 mm en los halos de inhibición entre los discos de CAZ-CLA y CAZ solos o CXT-CLA y CTX, se interpreta como resultado positivo.

tes de error

- ✓ Muestra de orina con antibiótico terapia
- ✓ Muestra contaminada
- ✓ Recipiente inadecuado
- ✓ Medio de cultivo no apropiado y/o contaminados
- ✓ Escala incorrecta de McFarland
- ✓ Distancia inapropiada entre discos de sensibilidad

- ✓ Discos de sensibilidad vencidos
- ✓ Medio de cultivo vencidos
- ✓ Mal registro de temperatura de la estufa
- ✓ Mal procedimiento del antibiograma

### **Forma de reporte**

#### **Cultivo**

Positivo o negativo y en caso de positivo identificar el microorganismo aislado y las características del mismo.

#### **Antibiograma**

Debe ser realizado en forma clara y precisa y enviado en forma inmediata al médico tratante. Referirse a las tablas correspondientes de la CLSI donde se encuentran las plantillas para antibiogramas y los intervalos de referencia actualizados.

#### **Intervalos de referencia**

Muestra negativa

Muestra con  $< 20000$  UFC/mL

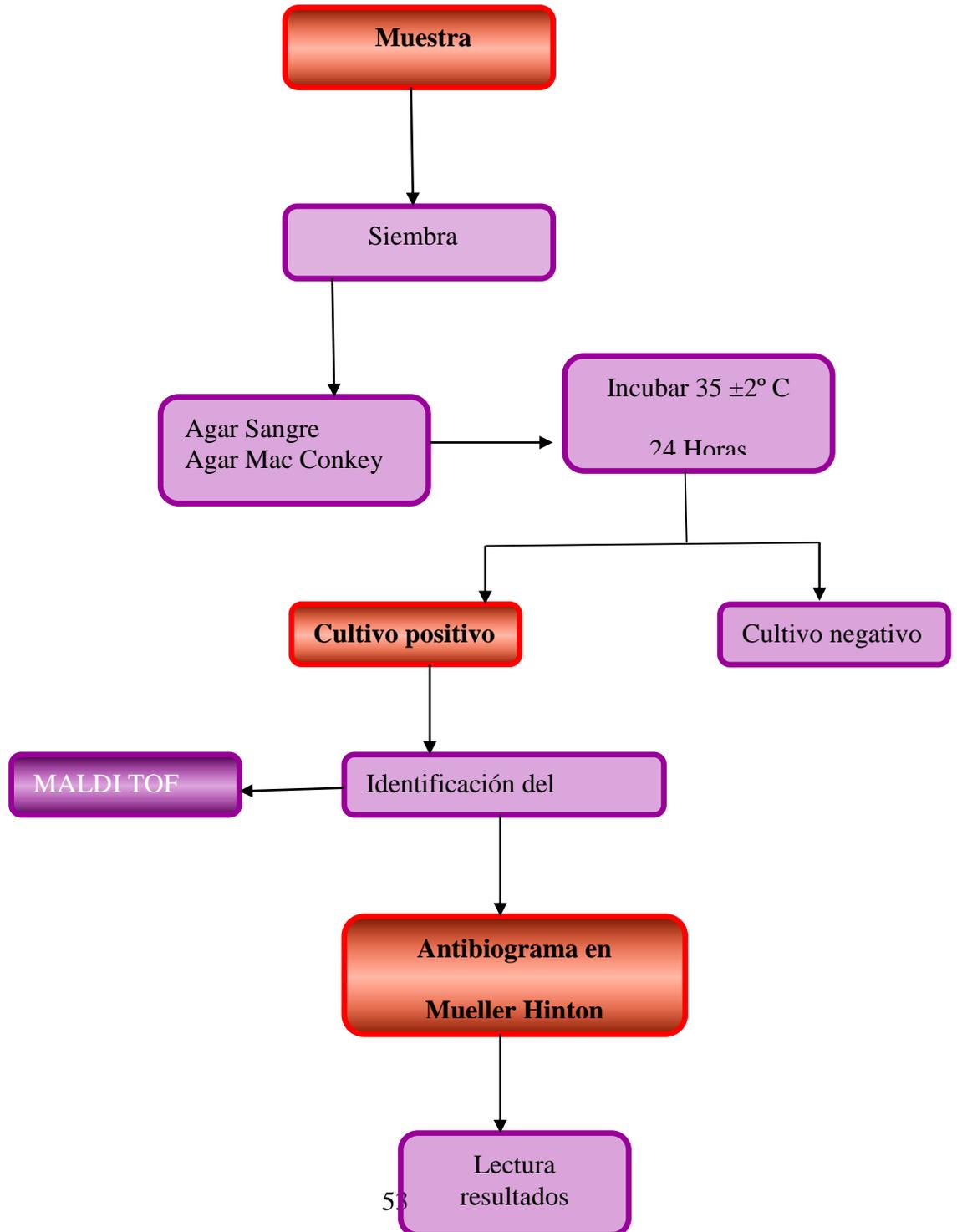
Muestra sospechosa de  $20000 - 80000$  UFC/mL

Muestra con infección  $> 80000$  UFC/mL

#### **Bibliografía**

- Clinical and Laboratory Standards Institute. Vol. 35 N0.3. 2015
- C. Ruiz de Alegría Puig y B. Perea López. Indicaciones y valoración clínica del urocultivo y coprocultivo Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España. Medicine. 2010;10 (49):3317-20.

Flujograma de trabajo



*Experiencia que genera confianza.*