

UNIVERSIDAD CIENTIFICA DEL PERÚ
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA PROFESIONAL
TECNOLOGIA MÉDICA



TITULO

**Prevalencia de Betalactamasas de Espectro extendido en
enterobacterias, en los urocultivos procesados en adultos del
Hospital III Iquitos EsSalud de enero 2015 a diciembre 2015**

Autor:

Kany Manuyama Rengifo

**Proyecto de Tesis Para optar el Título Profesional de Licenciado en
Tecnología Médica en la especialidad de Laboratorio Clínico y
Anatomía Patológica.**

Asesor: Lic. TM Martín Querevalú Zapata

SAN JUAN – IQUITOS

PERU

2017

INDICE DE CONTENIDO

	Pág.
Capítulo I Datos Generales	
1.1 Título	4
1.2 Área de investigación	4
1.2.1 Área	4
1.2.2 Línea	4
1.3 Autor	4
1.4 Colaboradores	
1.4.1 Instituciones	4
1.4.2 Personas	4
1.5 Duración estimada de ejecución	4
1.6 Fuentes de financiamiento	4
1.7 Presupuesto estimada	4
Capítulo II Plan de investigación	
1. Introducción	5
2. Resumen	12
3. Materiales y métodos	12
4. Objetivos	13
4.1 General	13
4.2 Especifico	13
5. Justificación de la investigación	14
6. Marco teórico	15
6.1 Antecedentes del estudio	15
6.2 Datos teóricos	19
6.3 Definición de términos básicos	20
6.3.1 Infección del Tracto Urinario	20
6.3.2 Infección	20
6.3.3 Acción patógena de las enterobacterias	20
6.3.4 Mecanismos de acción de los antibióticos	21
6.3.5 Determinantes de infección	22
6.3.6 Factores de riesgo	23
6.3.7 Antibiograma	23
6.3.8 Sensibilidad microbiana por el método de dilución	23
6.3.9 Categoría de interpretación	25
6.3.9.1 Sensible	25
6.3.9.2 Intermedio	25
6.3.9.3 Resistente	25
7. Inoculo	26
7.1 Prueba de microdilución en caldo	26
8. Betalactamasas	27
8.1 Clasificación de betalactamasas	29
8.2 Betalactamasas de espectro extendido	29

8.3. Tipos de BLEEs	31
8.3.1 SHV	31
8.3.2 TEM	31
8.3.3 CTX-M Yy betalactamasas Toho	32
8.3.4 OXA	32
8.3.5 PER	32
8.6.6 VEB.1, BES-1 Y OTROS BLEEs	32
9. Antibiograma importancia	33
9.1 Acción patógena de las enterobacterias	34
9.2 Mecanismos de acción de los antibióticos	34
9.3 Factores de riesgo	34
9.4 Microorganismos frecuentes	35
10. Variables	38
10.1 Variable independiente	38
10.2 Variable dependiente	38
Operacionalización de variables	39
Capítulo III Aspectos metodológicos	
11. Metodología	40
11.1 Urocultivo	40
11.2 Población y muestra	40
11.3 Criterios de inclusión	41
11.4 Criterios de exclusión	41
12. Recolección de datos	42
12.1 Técnica de recolección de datos	42
12.2 Instrumentos de recolección de datos	42
13. Procedimientos de recolección de datos	42
14 Resultados	45
15. Discusión	54
16. Conclusiones	57
17. Recomendaciones	58
18. Factores facilitadores	59
19. Factores limitantes	59
20. Cronograma de actividades	59
21. Presupuesto	60
22. Referencias bibliográficas	61
23. Anexos	64
Matriz de consistencia	65

INDICE DE TABLAS:

Tabla 1 Prevalencia según características demográficas y tipo de muestra según microorganismos productores de BLEE, en pacientes BLEE positivos	11
Tabla 2. . Clasificación de betalactamasas	29
Tabla 3. Prevalencia de enterobacterias BLEE positivo en el Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015	45
Tabla 4. Prevalencia de enterobacterias BLEE positivo en el Hospital III Iquitos, según muestra usada en el aislamiento, de enero a diciembre 2015.	46
Tabla 5. Frecuencia de bacterias BLEE positivo aisladas en el Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.	47
Tabla 6. Prevalencia de bacterias BLEE positivo de los urocultivos del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.	48
Tabla 7. Distribución de pacientes según edad y sexo en los pacientes con BLEE del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.	49
Tabla 8. Servicios donde se detectaron BLEE positivo en los urocultivos del Hospital III ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015.	50
Tabla 9. Frecuencia de enterobacterias BLEE positivo de los urocultivos según procedencia (Ambulatorio/Hospitalizado) del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.	51
Tabla 10. Factores asociados en pacientes con BLEE positivo en adultos del Hospital III ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015.	53

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia de enterobacterias BLEE positivo en el Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015	45
Figura 2. Prevalencia de enterobacterias BLEE positivo en el Hospital III Iquitos, según muestra usada en el aislamiento, de enero a diciembre 2015.	46
Figura 3. Frecuencia de bacterias BLEE positivo aisladas en el Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.	47
Figura 4. Prevalencia de bacterias BLEE positivo de los urocultivos del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.	48
Figura 5. Distribución de pacientes según edad y sexo en los pacientes con BLEE del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.	49
Figura 6. Servicios donde se detectaron BLEE positivo en los urocultivos del Hospital III ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015.	51
Figura 7. Frecuencia de enterobacterias BLEE positivo de los urocultivos según procedencia (Ambulatorio/Hospitalizado) del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.	52
Figura 8. Factores asociados en pacientes con BLEE positivo en adultos del Hospital III ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015.	53

Capítulo I DATOS GENERALES

1.1 Título

Prevalencia de Betalactamasas de Espectro Extendido, en enterobacterias de los urocultivos procesados en adultos del Hospital III Iquitos EsSalud Iquitos de enero 2015 a diciembre 2015

1.2 Área de investigación

1.2.1 Área: Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

1.2.2 Línea: Tecnología Médica

1.3 Autor: Kany Manuyama Rengifo

1.4 Colaboradores:

1.4.1 Instituciones: Hospital III EsSalud Iquitos.

1.4.2 Personas:

1.5 Duración estimada de la ejecución: 05 meses

1.6 Fuentes de financiamiento: Particular y propios

1.7 Presupuesto Estimado: S/ 2,500.00



UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ - UCP

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Iquitos, a 08 día del mes de Marzo del 2018, siendo las 05:00 p.m., el Jurado de Tesis designado según **Resolución Decanal N° 284- 2017-UCP-FCS**, de fecha 31 de Mayo del 2017, con cargo a dar cuenta al Consejo de Facultad integrado por los señores docentes que a continuación se indica:

FACULTAD DE
CIENCIAS
DE LA SALUD

↓ **Dr. Luis Alberto Valdivia Espinoza** **Presidente**
↓ **TML. Jhon Alejandro Cochaches de la Cruz** **Miembro**
↓ **TML. Ronald Guido Núñez Ato** **Miembro**

Se constituyeron en las instalaciones de la Sala de Sesiones del Consejo Directivo de nuestra Universidad, para proceder a dar inicio al acto de sustentación pública de la Tesis Titulada: **"PREVALENCIA DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN ENTEROBACTERIAS, EN LOS UROCULTIVOS PROCESADOS EN ADULTOS DEL HOSPITAL III, IQUITOS ESSALUD DE ENERO 2015 A DICIEMBRE 2015"**, de la Bachiller: **KANY MANUYAMA RENGIFO**, para optar el **TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN TECNOLOGÍA MÉDICA- LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**, que otorga la **UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ**, de acuerdo a la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto General de la UCP vigente.

Luego de haber escuchado con atención la exposición del sustentante y habiéndose formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas de forma.....

El Jurado llegó a la siguiente conclusión:

INDICADOR	EXAMINADOR 1	EXAMINADOR 2	EXAMINADOR 3	PROMEDIO
A) Aplicación de la teoría a casos reales	3	3	3	
B) Investigación Bibliográfica	3	3	3	
C) Competencia expositiva (claridad conceptual, Segmentación, coherencia)	3	3	3	
D) Calidad de respuestas	3	3	3	
E) Uso de terminología especializada	3	3	3	
CALIFICACIÓN FINAL	15	15	15	

RESULTADO:

APROBADO POR: *Mayo Aris*

CALIFICACIÓN FINAL (EN LETRAS): *buena*

LEYENDA:

INDICADOR	PUNTAJE
DESAPROBADO	Menos de 13 puntos
APROBADO POR MAYORÍA	De 13 a 15 puntos
APROBADO POR UNANIMIDAD	De 16 a 17 puntos
APROBADO POR EXCELENCIA	De 18 a 20 puntos

[Firma]
Dr. Luis Alberto Valdivia Espinoza
Presidente

[Firma]
TML. Jhon Alejandro Cochaches de la Cruz
Miembro

[Firma]
TML. Ronald Guido Núñez Ato
Miembro

La Universidad Vive en Ti

Av. Abelardo Quiñones Km. 2,5 San Juan Bautista, Iquitos Telf.: (061) 261058-261062



Dr. Luis Alberto Valdivia Espinoza
Presidente



TML. Jhon Alejandro Cochaches de la Cruz
Miembro



TML. Ronald Guido Núñez Ato
Miembro

Capítulo II Plan de Investigación

1 Introducción

Las enterobacterias representan aproximadamente al 50% de los microorganismos de importancia clínica. *Escherichia coli* es la más importante y la más descrita como causa de patología en los seres humanos. La vía urinaria es el origen de la mayoría de las bacteriemias y su posterior diseminación a otros tejidos, así mismo constituyen una de las patologías infecciosas más frecuentes en la comunidad y en el intrahospitalario.¹

Los antibióticos betalactámicos son el principal grupo de antimicrobianos y el más utilizado para el tratamiento; son activos frente a las Grampositivas, Gram-negativas y Espiroquetas. Su eficacia está en continuo reto debido a la emergencia de cepas bacterianas resistentes que producen Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), un grupo de enzimas producidas por bacilos Gram-negativos que hidrolizan Cefalosporinas de amplio espectro, los Monobactámicos y últimamente las Cefamicinas, pero no a los Carbapenémicos. Están mediadas generalmente por plásmidos y derivan de otras enzimas con menor espectro hidrolítico. Resaltan en este grupo a las Cefotaximasas (CTX).²

La prevalencia de microorganismos productores de BLEE posiblemente se encuentre subestimada por las dificultades de su detección en el laboratorio, sin embargo queda claro que están distribuidas por todo el mundo y los primeros casos en Enterobacterias fueron detectados en Europa.³

El tratamiento de la ITU depende de si es complicada o no complicada y siempre se debe tener en cuenta a los factores de riesgo. Es importante seleccionar en forma empírica hasta que se cuente con el resultado del urocultivo y antibiograma un antibiótico con alta

eficacia sobre el agente sospechado, muy buena distribución corporal, alta concentración en las vías urinarias y con toxicidad baja. Los objetivos del tratamiento deben ser la obtención de una respuesta rápida y efectiva, prevención de la recurrencia y evitar la aparición de resistencia a los antibióticos.

La elección de un antibiótico, en diversas infecciones, depende de los niveles de concentración plasmática que alcanza el antibiótico para lograr una susceptibilidad antimicrobiana alta. Pero, en el caso de la ITU, lo importante es la concentración del antibiótico en el parénquima renal, en la capa más profunda de la pared de la vejiga y de la próstata. Por lo tanto la excreción concentración urinaria y la determinación de la actividad del antibiótico en la orina son importantes para la decisión de si su uso se justifica o no en el tratamiento de la ITU.

Cuando se elige un betalactámico, el éxito terapéutico depende del tiempo en que la concentración del antimicrobiano permanece por encima de la concentración inhibitoria mínima (CIM); por tanto, cuanto mayor es el tiempo que la concentración del antibiótico está por encima del CIM, mejor será el resultado terapéutico. Entonces, muchas veces el fracaso terapéutico con un betalactámico se debe a que ha sido administrado mal: se prescribe a intervalos muy largos o a concentraciones muy bajas. En el caso de los antimicrobianos con actividad dependiente de los picos de concentración máxima sobre la CIM, como los aminoglicósidos y las quinolonas, el resultado adecuado de la terapia se basa en dosis que garanticen picos máximos de concentración antibiótica en relación al CIM con relativa independencia al tiempo de concentración mantenido bajo la curva.

En la ITU no complicada, se ha usado de rutina trimetoprim sulfametoxazol, pero estudios recientes demuestran que su susceptibilidad es baja. Por tanto, se prefiere usar

macroantina, cefalosporinas de primera y segunda generaciones, amoxicilina/ácido clavulánico y, a veces, quinolonas.

En el caso de las pielonefritis no complicadas, la terapia oral debería ser considerada en los pacientes con síntomas leves a moderados, que no tienen condiciones mórbidas concomitantes y que pueden tolerar la vía oral. Debido a que la *E. coli* viene mostrando una resistencia cada vez más creciente a la ampicilina, amoxicilina y a las cefalosporinas de primera y segunda generaciones, estos agentes no deberían ser usados para el tratamiento empírico de la pielonefritis. En estos casos, el tratamiento empírico con fluoroquinolonas es de elección porque son útiles tanto en la ITU complicada como en la no complicada; las más usadas son la ciprofloxacina y la norfloxacina. Sin embargo el uso de fluoroquinolonas como terapia de primera línea para el tratamiento de la ITU baja no complicada debería ser desalentado, a excepción de los pacientes que no pueden tolerar sulfonamidas o trimetoprim, los que tienen una frecuencia alta de resistencia antibiótica debido a un tratamiento antibiótico reciente o los que residen en un área donde la resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol es significativa.

La resistencia a antibióticos es un problema de relevancia mundial, y más concretamente a los antibióticos betalactámicos tan ampliamente utilizados. Existen numerosos mecanismos de resistencia a este tipo de antibióticos a través de modificaciones de las proteínas fijadoras de penicilina, la inactivación enzimática del antibiótico por producción de betalactamasas, la alteración de la permeabilidad por reducción de las porinas de la pared bacteriana o la eliminación del antimicrobiano una vez que ha penetrado en las bacterias gracias a bombas de expulsión presentes en sus envolturas (eflujo activo). Además, las bacterias pueden crear tolerancia, que es una forma particular de resistencia en la que la concentración bactericida mínima (CBM) es unas 32 veces la concentración

inhibitoria mínima (CIM), de manera que frente a estos microorganismos “tolerantes” el betalactámico se comporta como un antibiótico bacteriostático en lugar de bactericida.³

De los distintos mecanismos, las betalactamasas son la principal causa de resistencia a estos antibióticos.³ Estas enzimas hidrolizan el enlace amida del anillo betalactámico de manera que pueden inactivar penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, carbapenemas o distintas combinaciones de estos antibióticos.

Pueden ser cromosómicas o plasmídicas y sintetizarse de forma permanente (E. coli Shigella , Proteus mirabilis) o sólo en presencia de un agente inductor (Pseudomonas aeruginosa , Enterobacter , Citrobacter , Serratia , Morganella y Providencia rettgeri).

La existencia de estas enzimas limita de forma importante el uso empírico de antibióticos betalactámicos en los hospitales. Además, la fácil transferencia de unos organismos a otros, la aparición de nuevos tipos de betalactamasas, su prevalencia cada vez mayor, así como la aparición de cepas multirresistentes a distintos antibióticos, resultan especialmente problemáticas en la práctica clínica.

La etiología y la susceptibilidad antimicrobiana cambian con el tiempo, por lo que un estudio periódico de aquellas es necesario para un manejo racional y efectivo de las infecciones urinarias.

En el Hospital III Iquitos ESSALUD, se desconoce la prevalencia de BLEE de los gérmenes causantes de ITU en pacientes adultos ambulatorios y hospitalizados. No se conocen cifras en la región, o no se socializan lo que es una desventaja para los clínicos y para la información epidemiológica regional.

Los antibióticos son sustancias producidas por microorganismos vivos o reproducidos en el laboratorio, que destruyen o detienen el crecimiento de bacterias patógenas de forma ideal con poco o ningún efecto tóxico contra el huésped; los denominados microorganismos resistentes, son los que no son afectados por los antibióticos; por lo tanto, la resistencia no implica la aparición de bacterias más virulentas sino más bien la aparición de bacterias más difíciles de destruir. Estos microorganismos presentan defensas intrínsecas y extrínsecas, que las protegen de los antibióticos. La resistencia intrínseca es inherente de las bacterias que evita la acción de los antibióticos; la resistencia extrínseca o adquirida resulta de la exposición de las bacterias a los antibióticos y se producen cepas resistentes que eran previamente sensibles.

El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recomienda como pruebas de tamizaje buscar la disminución de la inhibición en ceftriaxona (CRO), cefotaxima (CTX), ceftazidima (CAZ) y el aztreonam (ATM) que permitan sospechar la presencia de BLEE en *Escherichia coli* y *Klebsiella spp* y como método confirmatorio se emplea cefotaxima y ceftazidima con y sin ácido clavulánico, este último es un inhibidor de las BLEE¹⁸. Por su parte, el método de Jarlier⁴, basado en la sinergia entre los antibióticos betalactámicos (CAZ, CTX, CRO, ATM) colocados alrededor de un disco de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg) (AMC), adicionalmente se ha determinado que el uso de cefalosporinas de cuarta generación como cefepime, facilita la detección de cepas BLEE con poca eficiencia hidrolítica.¹⁴ Asimismo, el método de Hodge, usado para la determinación de mecanismos enzimáticos de resistencia, ha sido adaptado para identificar la presencia de β -lactamasas; dependiendo de los substratos que se utilicen, son útiles para cualquier tipo de β -lactamasas.¹³ El método tridimensional descrito por Thomson et al., es un bioensayo, basado en la determinación de mecanismos enzimáticos de resistencia presente en microorganismos capaces de hidrolizar un antibiótico determinado.¹⁴

La diversidad en el grado de hidrólisis de los antibióticos por las β -lactamasas, conduce a la necesidad de evaluar la capacidad de los distintos métodos para la detección de cepas productoras de BLEE en nuestro medio, determinando de esta manera el método con mejores propiedades diagnósticas y económicas; lo que llevará a una oportuna identificación, con los consiguientes beneficios para el paciente y la comunidad y sobre esta base proponer las medidas de vigilancia para su detección e identificación.⁶

En nuestra ciudad, Iquitos no se ha reportado trabajos al respecto, además, no se cuenta con información de la real prevalencia de la resistencia antimicrobiana mediada por BLEE en bacterias Gram negativas, debido a la falta de estudios y la dificultad técnica para su detección. El Hospital III Iquitos ESSALUD, al contar con un equipo automatizado de última generación, el AutoScan walkaway 96 plus, nos da una herramienta valiosa para poder detectar estas cepas productoras de BLEE.

Tabla 1. Prevalencia según características demográficas y tipo de muestra según microorganismo productores de BLEE, en pacientes BLEE positivos.

	BGN-BLEE n = 928	<i>E. coli</i> n = 672	<i>Klebsiella sp</i> n = 186	<i>P. aeruginosa</i> n = 18	<i>Salmonella sp.</i> n = 9	Otros n = 43
Sexo						
Varón	249 (26,8)	162 (24,1)	61 (32,8)	8 (44,4)	3 (33,3)	15 (34,8)
Mujer	660 (71,1)	496 (73,8)	121 (65,1)	10 (55,6)	6 (66,6)	27 (62,8)
ND	19 (2,1)	14 (2,1)	4 (2,1)	-	-	1 (2,4)
Edad						
0 a 15	66 (7,1)	32(4,7)	20 (10,7)	5 (27,8)	7 (77,7)	2 (4,6)
16 a 45	201 (21,6)	158 (23,5)	30 (16,1)	3 (16,6)	1 (11,1)	9 (20,9)
46 a 65	246 (26,5)	194 (28,8)	36 (19,3)	2 (11,1)	-	14 (32,5)
65 a más	247 (26,6)	182 (27,0)	49 (26,4)	2 (11,1)	1 (11,1)	13 (30,2)
ND	168 (18,1)	106 (15,7)	51 (27,4)	6 (33,3)	-	5 (1,6)
Tipo de muestras						
Orina	760 (81,9)	619 (92,1)	104 (55,9)	3 (16,6)	1 (11,1)	33 (76,6)
Sangre	14 (1,5)	8 (1,1)	6 (3,2)	-	-	-
Herida	6 (0,6)	4 (0,6)	2 (1,1)	-	-	-
MR	92 (9,9)	16 (2,3)	60 (32,2)	11 (61,1)	-	5 (11,6)
LO	52 (5,6)	25 (3,7)	11 (5,9)	3 (16,6)	8 (88,8)	5 (11,6)
ND	4 (0,4)	-	3 (1,6)	1 (5,56)	-	-

ND: No determinado por no disponer de datos; MR: muestra respiratoria; LO: Líquido orgánico.

2. RESUMEN

En las últimas décadas, los bacilos gramnegativos han desarrollado una gran variedad de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, entre ellos se encuentran las betalactamasas de espectro extendido, enzimas capaces de hidrolizar los betalactámicos, dichas enzimas inactivan además de las penicilinas y las cefalosporinas de primera y segunda generación, a las oximino-cefalosporinas y al aztreonam.

El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de Betalactamasas de Espectro Extendido en los urocultivos positivos procesados en adultos del Hospital III ESSALUD Iquitos durante el año 2015.

3. Materiales y métodos: Se realizara un estudio analítico retrospectivo transversal, se usara como población a los pacientes que se les indico el examen de urocultivo que presentan manifestaciones clínicas compatibles con infección, y que sean positivos, en un periodo de 12 meses. Según criterios de inclusión y exclusión. Serán considerados los urocultivos positivos de los diferentes servicios del hospital III Iquitos ESSALUD, se revisara el antibiograma estandarizado según Concentración Inhibitoria mínima (CIM), se clasificara a las bacterias como: resistente, intermedio o sensible según los criterios del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Intitute).¹¹ y los antibióticos a usar serán según panel correspondiente, panel 55 para Gram negativos urinarios.

4. Objetivos:

4.1 General:

Determinar la prevalencia de Betalactamasas de Espectro Extendido en enterobacterias de los urocultivos procesados en adultos del Hospital III Iquitos ESSALUD Iquitos, de enero 2015 a diciembre 2015.

4.2 Específicos:

- Identificar las características demográficas de la población como: edad, sexo y procedencia.
- Determinar la presencia de especies productoras de BLEE según tipo de servicios hospitalarios
- Señalar la resistencia mediada por BLEE de especies aisladas en los pacientes captados en consultorio ambulatorio y en pacientes hospitalizados.
- Observar la distribución de la resistencia a varios antibióticos en las cepas productoras de BLEE.

5. Justificación de la investigación:

Estudios realizados en la ciudad capital nos muestran datos que no se ajustan con la epidemiología de nuestra región, la biodiversidad de nuestro país justifica estudios regionales propios, para así conocer el comportamiento epidemiológico fluctuante de los microorganismos que tienen mayor incidencia en esta parte de nuestra patria.

Los datos a revisar de los urocultivos de los pacientes adultos que se atendieron en el Hospital III Iquitos ESSALUD en el periodo determinado, nos brindaran información de suma importancia para conocer la incidencia y resistencia de los microorganismos más frecuentes aislados en la unidad prestadora de servicios de microbiología.

El interés en la realización del estudio radica en la importancia de la identificación de las bacterias productoras de BLEE, ya que estas representan un alto porcentaje de morbilidad en todos los servicios con que cuenta el hospital; por lo tanto se pretende proporcionar la información útil para establecer registros que permitan dicha identificación.

El presente trabajo propone un estudio retrospectivo para identificar la prevalencia de bacterias productoras de BLEE y su asociación con los microorganismos encontrados, de forma que se permitan establecer registros que sirvan de base para un mejor seguimiento epidemiológico.

6. Marco Teórico:

6.1 Antecedentes del estudio: En nuestro país se han realizado estudios similares, pero en la ciudad capital, en Loreto no se conocen datos o no se socializan, a nivel nacional tenemos los siguientes estudios:

Huaman, Victor, 2012, Lima, en su estudio de Detección fenotípica de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido aisladas en urocultivos de gestantes. Lima, Perú. Es un estudio de tipo descriptivo, observacional y prospectivo. Participan gestantes que acudieron a realizarse urocultivo en el periodo de marzo a octubre del 2012 en el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen. Identifica las cepas productoras y no productoras de BLEE con los sistemas de identificación rutinarios del hospital, se recolectaron los aislados bacterianos con sus reportes de antibiogramas. Realiza confirmatorio de fenotipo BLEE por el método de Jarlier a todos los aislados, y aplica antibiograma por método de Kirby Bauer para fosfomicina y nitrofurantoina, se almacena a -20°C en glicerol al 20%, dos meses después realiza PCR convencional para tipificar molecularmente los aislados. Encuentra que de 265 muestras de orina de gestantes que se recolectaron, 25.2% (67) presentan crecimiento en el cultivo. Halla 73.2% (49) enterobacterias, en las cuales la *Escherichia coli* ocupó el primer lugar con 65.8% (44), seguida por *Klebsiella pneumoniae* 5.9% (4) y *Morganella morganii* 1.5% (1). Detecta mediante el sistema Vitek 2 compact 19 aislados productoras de BLEE, lo cual se traduce en una prevalencia del 38.8%. Recupera 10 aislados BLEE después del almacenamiento, los genes CTX-M1 Y CTX-M2 se encuentran en 70% y 10% respectivamente. Concluye que existe alta prevalencia de BLEE en enterobacterias de gestantes y alta frecuencia de genes CTX-M1.⁶

Llenque Diaz Luis, Trujillo 2011, en su trabajo betalactamasas en cultivos de *Escherichia coli* aislados de urocultivos, coprocultivos y de alimentos de la ciudad de Trujillo 2011, reporto; la presencia de betalactamasas en 90 cultivos de *Escherichia coli*, aislados de urocultivos, coprocultivos y de alimentos, proporcionados por el Laboratorio de Fisiología y Genética Microbiana, utilizando el método yodimétrico para determinar betalactamasas clásicas y el método de difusión de doble disco para Betalactamasas de espectro extendido. Se encontró un 70% (21) de cultivos que presentaban betalactamasas clásicas provenientes de urocultivos y también de cultivos de alimentos, y un 50% (15) en coprocultivos. La producción de betalactamasas de espectro extendido por *E. coli* de urocultivos fue de 50% (15), seguida de un 30% (9) de coprocultivos. La evaluación de betalactamasas de espectro extendido por antibiótico arrojó 12 cultivos positivos para ceftazidima, 6 para cefotaxima y aztreonam y 3 para cefuroxima provenientes de urocultivos; así mismo, 9 cultivos fueron positivos para ceftazidima, 6 para cefuroxima y 3 para cefotaxima y aztreonam de coprocultivos. Un diagnóstico oportuno de estas enzimas en los cultivos microbianos aislados de muestras biológicas permitirá monitorear la incidencia de estas poblaciones resistentes a los antibióticos betalactámicos.

Paredes Gago Rolando, en su trabajo Prevalencia de enterobacteriáceas productoras de betalactamasas de espectro extendido (Blee) en la clínica Good Hope durante el periodo marzo – agosto del 2012, reporto; Entre los meses de marzo-agosto del 2012 se aislaron 1672 enterobacteriáceas, de las cuales, el 21.2% (354 casos) fueron enterobacteriáceas BLEE (+) El 85% (301) fueron del sexo femenino y 15% (53) fueron del sexo masculino; La edad media de los pacientes con enterobacteriáceas BLEE (+) fue de 57.03 ± 26.17 Años. Las

enterobacteriáceas BLEE (+) fueron más frecuentes en los pacientes con edades > 61 años (52.5%) y entre 20-60 años (43.5%). En el sexo femenino las pacientes con enterobacteriáceas BLEE (+) se presentaron mayormente en el grupo etario > 61 años (48.2%), así mismo en el sexo masculino las enterobacteriáceas BLEE (+) se presentaron en el grupo etario > 61 años (77.4%). Estadísticamente significativo, ya que existe diferencias en las BLEE (+) en adultos mayores respecto a los otros grupos de edad. Se hallaron enterobacteriáceas BLEE (+) en 2 casos del sexo femenino menores de 1 año, El 91.5% (324/354) correspondieron a muestras de pacientes ambulatorios y el 8.5% (30/354) fueron muestras de los pacientes hospitalizados en la Clínica Good Hope.³

Las enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas más importante fueron *Escherichia coli* (80.5%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (11.3%) y *Proteus mirabilis* (3.4%). Al hacer el análisis según la procedencia, se mantuvo la misma proporción tanto en los pacientes ambulatorios como en los hospitalizados. No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes ambulatorios y los hospitalizados.³

A nivel internacional:

Keller L, 2013, Buenos Aires, Argentina, en su estudio de prevalencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en enterobacterias provenientes de urocultivos de pacientes ambulatorios. Se encontró:

Del total de urocultivos, 2.409 (21,8%) fueron positivos según los criterios establecidos para el diagnóstico de infección urinaria, siendo 1.935 (80,3%) correspondientes a enterobacterias.

Se detectó la presencia de BLEE en 114 cepas (5,9 %). La distribución por género y especie fue: *Klebsiella pneumoniae*: 28 de 123 (22,8%), *Klebsiella oxytoca*: 4 de 19 (21,1%), *Escherichia coli*: 76 de 1.610 (4,7%), *Proteus mirabilis*: 4 de 108 (3,7%), *Enterobacter* spp: 1 de 17 (5,9 %) y *Morganella* spp: 1 de 1 (100%). No se detectaron BLEE en las cepas de *Proteus vulgaris* (10), *Citrobacter* spp (45), *Serratia* spp (1) y *Providencia* spp.⁷

Amado NY, Tunja Colombia 2013, en su trabajo de prevalencia de betalactamasas de espectro extendido nos da como resultados:

El total de los aislamientos reportados en la institución para el periodo estudiado fue 2.707 cepas, de las cuales 2.156 (79,6%) corresponden a bacterias gramnegativas. Los aislamientos BLEE positivo se distribuyeron solo en cuatro especies bacterianas (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *K. ozaenae*). La proporción de los aislados con respecto a la presencia de BLEE. Al realizarse el perfil de susceptibilidad se observó 100% de resistencia a la penicilina por parte de *Staphylococcus coagulasa* positivo (SCP) y *Staphylococcus coagulasa* negativa (SCN). Bacterias Gram positivas sensibles 100% a la vancomicina. Imipinem y ceftazidima sensibilidad del 100% por parte de SCN Y *Corynebacterium* spp.⁸

Jorge Geovanny Guamán Rojas, Cuenca Ecuador 2015, en su estudio realizado en el vecino país se dieron los siguientes resultados:

La prevalencia de enterobacterias BLEE + fue de 27,47% (633 casos identificados). En el 82,3% de los casos fueron pacientes con diagnóstico clínico, el germen más frecuentemente aislado fue *Escherichia coli* con el 53,2%; esta prevalencia es elevada prácticamente 1 de cada 2 pacientes afectados por bacterias de BLEE.⁹

6.2 Bases Teóricas

La resistencia bacteriana se define como una condición microbiológico caracterizada por la capacidad natural o adquirida por la por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico.

La resistencia bacteriana obliga al desarrollo y utilización de nuevos antibacterianos que son más costosos y que a veces son más tóxicos que los empleados habitualmente. Cuando se lanza un antibiótico al mercado un fármaco antibacteriano, se define el espectro de microorganismos sobre los cuales es eficaz, pero luego este patrón va cambiando a medida de que el antibiótico se va usando, llegando en algunos casos al desuso.

La prevalencia de uropatógenos resistentes en pacientes con infección urinaria ha aumentado en los últimos años tanto en las adquiridas en la comunidad como en las nosocomiales. Por este motivo se han investigado diferentes factores de riesgo que puedan favorecer este aumento de la resistencia; entre los principales factores de riesgo para desarrollar resistencia a trimetoprim o trimetoprim sulfametoxazol se han encontrado los siguientes: Terapia antibiótica previa, antecedente de infección urinaria en los últimos 6 meses, sexo masculino, diabetes y reciente hospitalización. Además los factores de riesgo que se han identificado para desarrollar resistencia a ciprofloxacino son: Paciente mayor de 65 años, anormalidad del tracto urinario, infección urinaria recurrente, tratamiento previo con quinolonas y uso de catéter urinario.

6.3 Definición de términos básicos

6.3.1 Infección:

Respuesta inflamatoria secundaria a la presencia de microorganismos o invasión de tejidos del huésped que habitualmente es estéril.¹²

6.3.2 Infección del Tracto urinario (ITU):

La infección del tracto urinario es la forma más común de infección bacteriana humana. Ocurre en cualquier edad de la vida, aunque el principal impacto es en mujeres de todas las edades, varones en los dos extremos de la vida, pacientes con trasplante renal y en pacientes con anormalidades estructurales o funcionales del riñón y/o del tracto urinario. Sin embargo a pesar de la frecuencia en que ocurre y el volumen de literatura existente, aún controversia en relación a su óptimo tratamiento.

Si bien es cierto que la ITU se define sobre la base de los resultados del cultivo de orina, es necesario remarcar que es importante tratar de determinar el sitio anatómico del tracto urinario afectado, ya que las consecuencias y el tratamiento de la infección en un lugar anatómico pueden ser muy diferentes a la ITU de otro lugar anatómico, aun así la misma especie es responsable de ambas infecciones.¹¹

6.3.3 Acción Patógena de las enterobacterias:

Las enterobacterias presentan los siguientes factores determinantes de patogenicidad:

a) Antígenos estructurales de superficie, antígenos capsulares (antígenos K) y fimbrias (antígenos F) que actúan por sus propiedades antifagocitarias, o de seroresistencia o su capacidad de adherencia.

También algunas enterobacterias pueden desarrollar glicocalix que les permiten adherirse a materiales inertes (catéteres, prótesis) y expresar su acción patógena.

b) Bacteriocinas: Son proteínas que presentan propiedades tóxicas frente a cepas de la misma especie o de especies relacionadas que les facilita la colonización de las mucosas al inhibir el desarrollo de especies relacionadas. Algunas cepas de enterobacterias (E.coli, K pneumonie, S marcescens) producen Bacteriocinas.

c) Endotoxinas: algunas cepas producen enterotoxinas que actúan ya sea por acción toxica directa sobre las células del epitelio intestinal o del endotelio vascular (enterotoxinas citotóxicas) o produciendo un estímulo funcional, generalmente a través de la adenilciclase (enterotoxinas citotóxicas). Las enterotoxinas mejor conocidas son las de E. coli, pero también se han señalado en otras enterobacterias (Salmonella, Shigella, etc.)

6.3.4. Mecanismos de acción de los antibioticos:

Los antibióticos son sustancias químicas sintetizadas por microorganismos que poseen acción antimicrobiana. Estos agentes antimicrobianos se pueden clasificar según su origen, efecto antimicrobiano, espectro de actividad y mecanismo de acción.

1. Origen:

- Naturales: se obtienen a partir de microorganismos (hongos, bacterias, etc.).
- Sintéticos: se obtienen totalmente por síntesis química.

- Semisintéticos: se obtienen por modificaciones químicas de antimicrobianos naturales, con el fin de mejorarlos.

2. Efecto:

- Bacteriostático: la máxima concentración no tóxica que se alcanza en suero y tejidos impide el desarrollo y multiplicación de los microorganismos, sin destruirlos, pudiendo estos multiplicarse nuevamente al desaparecer el agente antimicrobiano.

Sirven para complementar los mecanismos defensivos del huésped.

- Bactericida: su acción es letal sobre los microorganismos, por lo que éstos pierden irreversiblemente su viabilidad o son lisados.

3. Espectro de actividad:

- Amplio: actúan sobre un gran número de especies microbianas (ejem. TETRACICLINA).
- Intermedio: actúan sobre un número limitado de microorganismos (ejem MACROLIDOS).
- Reducido: actúan sobre un pequeño número de especies microbianas (ejem. POLIMIXINA).

4. Mecanismo de acción:

- Inhibición de la síntesis de la pared celular.
- Alteración de la permeabilidad celular.
- Inhibición de la síntesis proteica.
- Inhibición de la síntesis de ADN y ARN.

6.3.5. Determinantes de infección:

Los factores que van a determinar que la ITU ocurra, la localización y la severidad, son tres: 1) el tamaño del inóculo de la bacteria introducida: 2) los

mecanismos de defensa del huésped y 3) los factores de virulencia del organismo infectante.

6.3.6. Factores de riesgo:

- Actividad sexual
- Embarazo: el cambio hormonal predispone a las ITUS, especialmente al final del primer trimestre y al comienzo del tercer trimestre. El crecimiento del útero comprime a la vejiga lo que ocasiona vaciamiento incompleto durante la micción, lo que promueve un medio adecuado para la reproducción bacteriana.
- Obstrucciones por cálculos que impiden el flujo de orina por las vías urinarias.
- Diabetes mellitus, falla renal, reflujo vesicouretral.
- Retención urinaria, problemas para vaciar completamente la vejiga.
- Sondas vesicales.

6.3.7. Antibiógrama:

Los antibiógramas son métodos in vitro que determinan la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específica y estandarizada. La meta principal del estudio de susceptibilidad es proveer al clínico algunas recomendaciones sobre la terapia que puede ser más apropiada en pacientes con una infección específica.

6.3.8. Sensibilidad microbiana por el método de dilución:

Las técnicas de dilución en caldo o agar, se pueden utilizar para medir cuantitativamente la actividad "in vitro" de un antimicrobiano frente a un cultivo bacteriano. Estos métodos se basan en la preparación de una serie de tubos o

placas con caldo o agar, respectivamente, a los cuales se les agrega el antibiótico (ATB) en distintas concentraciones. Luego se inoculan cada uno de los tubos o las placas con una suspensión estandarizada del microorganismo en estudio. Las pruebas se examinan después de incubar 18 a 24 hs. a 35°C y se determina la concentración inhibitoria mínima (CIM) del antimicrobiano frente al microorganismo ensayado. El resultado final depende significativamente de la metodología empleada. Por ello, para obtener valores reproducibles intra e interlaboratorios, cada detalle técnico debe ser cuidadosamente controlado.

Para realizar pruebas de sensibilidad e identificación se debe partir de un cultivo primario en medio sólido y se debe procesar una colonia aisladas de cada tipo de microorganismo que pueda tener rol patógeno. No se deben realizar pruebas de sensibilidad sobre mezclas de diferentes tipos de microorganismos, ni sobre el material clínico sin procesar, excepto para emergencias clínicas donde la coloración de Gram sugiera la presencia de un sólo patógeno. Cuando la prueba de sensibilidad haya sido realizada a partir del material clínico, se debe informar como resultado preliminar y se debe repetir utilizando la metodología estandarizada.

El valor de CIM obtenido por el método de dilución, orienta al clínico sobre que concentración de antibiótico necesita alcanzar en el sitio de infección para inhibir el microorganismo infectante. La CIM, sin embargo, no representa un valor absoluto. La CIM real puede estar entre la menor concentración de antibiótico que inhibe al microorganismo y la siguiente donde se observa desarrollo del mismo. Si por ejemplo, fueran probadas diluciones al medio y se determina una CIM de 16 µg/ml, el verdadero valor podría estar entre 16 y 8 µg/ml. Debe tenerse en cuenta que a pesar de realizar las pruebas de dilución

bajo condiciones cuidadosamente controladas, no siempre se obtienen los mismos resultados. Generalmente, la reproducibilidad de esta prueba es de +/- 1 dilución.

La metodología más común para la determinación de La CIM es la que utiliza diluciones seriadas al medio (por ej. 1,2,4,8,16 µg/ml, etc.). También existen otros esquemas de dilución, que utilizan unas pocas concentraciones (hasta dos), concentraciones "Breakpoint" o que agregan concentraciones entre las que se ensayan normalmente (por ej. 4, 6, 8, 12, 16 µg/ml). Los resultados de estos métodos alternativos pueden ser igualmente útiles en la clínica; sin embargo, a veces son más difíciles de controlar.

Cuando se informa al clínico el resultado de la CIM, el valor debe ser acompañado por su correspondiente interpretación (por ej. SENSIBLE, INTERMEDIO o RESISTENTE). Cuando las CIMs se realizan con 4 o menos concentraciones consecutivas, o con concentraciones no consecutivas, se debe informar la correspondiente interpretación. Si se desea se puede informar además el rango de CIM.

6.3.9. Categorías de interpretación:

6.3.9.1. Sensible: Esta categoría implica que una infección dada por la cepa en estudio puede ser tratada apropiadamente con la dosis de antibiótico recomendada para el tipo de infección y la especie infectante, a menos que hubieran contraindicaciones. Para algunas combinaciones organismo/antibiótico, la ausencia de cepas resistentes excluye la definición de cualquier resultado a otra categoría que no sea "Sensible". Aquellas cepas que

presenten resultados sugestivos de “No sensible” frente a una droga determinada, deberían ser enviadas al laboratorio de referencia para futuros estudios.

6.3.9.2. Intermedio: Esta categoría incluye cepas que pueden ser inhibidas por concentraciones de antibiótico más elevadas, siempre que las dosis usadas puedan ser aumentadas (pej: Betalactámicos) o que sean concentradas fisiológicamente en el tejido infectado (pej: betalactámicos y quinolonas en orina). También nos indica una "zona buffer" que debería evitar que pequeños factores técnicos difíciles de controlar causen mayores discrepancias de interpretación (drogas afectadas por variaciones en el medio, drogas con limitado margen farmacotóxico, etc.).

6.3.9.3. Resistente: Las cepas resistentes no son inhibidas por las concentraciones in vitro normalmente alcanzadas a dosis habituales y/o caen en el rango donde son comunes mecanismos específicos de resistencia microbiana (por ejemplo Betalactamasas) y la eficacia clínica no ha sido comprobada.

7. Inoculo:

El inóculo estandarizado para el método de dilución en agar, se puede preparar permitiendo el crecimiento del microorganismo hasta la turbidez 0,5 de la escala de McFarland o bien resuspendiendo colonias directamente hasta alcanzar dicha turbidez.

7.1. Prueba de microdilución en Caldo:

1) Este método se denomina microdilución porque involucra pequeños volúmenes de caldo. La prueba se realiza en policubetas de plástico estériles de fondo cónico o redondo, cada pocillo debe contener 0,1 ml de caldo.

2) El método más conveniente para obtener las diluciones, consiste en prepararlas en un volumen de por lo menos 10 ml y colocar 0.1 (+/- 0.02) ml en cada uno de los 96 pocillos mediante un dispositivo mecánico (pipeta automática mono o multicanal). Si el inóculo se agrega con pipeta, la solución de antibiótico se debe preparar de una concentración tal, que duplique la deseada y los pocillos deben ser cargados con 0.05 ml en vez de 0.1 ml. Cada policubeta debe incluir un pocillo de control de crecimiento (sin antibiótico), y un control negativo (caldo sin inocular).

3) Las policubetas, con las diluciones cargadas, se deben sellar inmediatamente después de preparadas en una bolsa de plástico y guardarse a -20° C (si es posible a una temperatura igual o menor que -60° C) hasta el momento de su utilización. La mayoría de los antibióticos conservados de esta manera se mantienen estables por varios meses pero algunos (por ej. ac.clavulánico, cefaclor, oxacilina, imipenem, etc.) pueden ser más lábiles por lo que deben almacenarse a una temperatura inferior a los -60° C. Las policubetas con las soluciones de antibiótico no deben ser guardadas en freezers autodescongelables y una vez descongeladas, no debe volver a congelarse, ya que este procedimiento deteriora rápidamente algunos antimicrobianos, particularmente los β -lactámicos.

8. Betalactamasas:

Las betalactamasas son enzimas capaces de inactivar los antibióticos de la familia betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos). Las primeras descripciones de estas enzimas se realizaron poco tiempo después de comenzado el uso de las penicilinas. Con el surgimiento y uso repetitivo de nuevos betalactámicos, penicilinas semisintéticas y cefalosporinas fueron apareciendo nuevas variantes de betalactamasas, hasta que en 1983 se describen

por primera vez las llamadas betalactamasas de espectro extendido capaces de inactivar las cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima) y el aztreonam. Aunque se han descrito con mayor frecuencia en cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, las betalactamasas de espectro extendido pueden ser producidas por cualquiera de las enterobacterias, incluso por los bacilos no fermentadores *P. aeruginosa* y *A. baumannii*.¹³

8.1. Clasificación de Betalactamasas:

Las betalactamasas se clasifican principalmente atendiendo a dos esquemas (tabla 1): la clasificación molecular de Ambler y la clasificación funcional de Bush, Jacoby y Medeiros (5). La clasificación de Ambler divide las betalactamasas en cuatro clases (A-D). Se basa en la homología de las proteínas. Las clases A, C y D son serina-betalactamasas y la clase B son metalo-betalactamasas. La clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros también consta de cuatro grupos y diversos subgrupos. Se basa en las características funcionales, teniendo en cuenta distintos criterios como las propiedades bioquímicas (peso molecular, secuenciación de nucleótidos), las propiedades físicas (punto isoeléctrico), el espectro de hidrólisis, el espectro de inhibición, la codificación (plasmídica o cromosómica), etc. Esta clasificación es mucho más importante en el diagnóstico microbiológico de laboratorio ya que considera los substratos y los inhibidores de las betalactamasas clínicamente relevantes.

Grupo (B-J-M)	Características	Clase Molecular (Ambler)	Inh AC	Inh EDTA	Enzimas representativas
1	Cefalosporinasas	C	-	-	AmpC; MIR-1
2a	Penicilasas	A	+	-	PCI (<i>S aureus</i>)
2b	Enzimas de amplio espectro	A	+	-	TEM1,2;SHV1
2be	Enz de espectro extendido (BLEE)	A	+	-	TEM3-28; SHV2-6
2br	Enz de amplio espectro resistente a inh	A	±	-	TEM30-36; TRC-1
2c	Carbenicilinasas	A	+	-	PSE-1; CARB3
2d	Cloxacilinasas	D	±	-	OXA1-11; PSE-2
2e	Cefalosporinasas	A	+	-	<i>P vulgaris</i>
2f	Carbapenemasas	A	+	-	IMI1, NMCA, Sme1
3	Melalo betalactamasas	B	-	+	L1 (<i>S maltophilia</i>)
4	Penicilinasas	ND	-	?	<i>B cepacia</i>

Tabla 2. Clasificación de betalactamasas Inh AC: Inhibidores Ac clavulanico

8.2. Betalactamasas de espectro extendido:

La producción bacteriana de betalactamasas existe desde antes del uso generalizado de la penicilina. Aunque inicialmente esta actividad enzimática era más importante en cepas de *Staphylococcus aureus* se empezó a desarrollar como principal mecanismo de resistencia a antibióticos betalactámicos en bacterias gramnegativas (BGN). Sin embargo, su existencia no llama la atención hasta el descubrimiento de la resistencia a ampicilina mediada por plásmidos en *E. coli*. Más tarde, aparecen resistencias a cefalosporinas de segunda generación por la hiperproducción de la betalactamasa cromosómica AmpC. La siguiente explosión de betalactamasas sucede con la aparición de resistencias a cefalosporinas de tercera generación a principios de los años 80 que se denominaron betalactamasas de espectro extendido (BLEEs). Éstas derivan de betalactamasas ya existentes que han sufrido mutaciones aleatorias por presión selectiva al

introducir las cefalosporinas de tercera generación. Inicialmente estaban restringidas a *E. coli* y *Klebsiella* spp., organismos que contenían las tres betalactamasas progenitoras de las BLEEs (TEM-1, TEM-2 y SHV-1).¹⁴

Tras la introducción de la cefotaxima en Europa apareció la primera BLEE documentada en una cepa de *Klebsiella ozonaea* en Alemania en 1983. Se denominó SHV-2 ya que sólo difería de su progenitora SHV-1 en un único aminoácido. Un año después, se describió en Francia una nueva BLEE que se denominó TEM-3. En los siguientes cinco años, se describieron nuevas BLEEs resistentes a cefotaxima en *Klebsiella* spp., *E. coli* y *Citrobacter freundii*. La introducción de la ceftazidima, hizo que rápidamente aparecieran nuevas BLEEs que conferían resistencia a ella. Desde entonces, ha habido una rápida evolución de este tipo de enzimas por todo el mundo, incluso se han descrito BLEEs que confieren resistencia a cefaminicas y carbapenemas.¹⁴

Las BLEEs pertenecen al grupo 2be y a la clase molecular A (tabla 2). Deben su nombre a que confieren resistencia a un amplio espectro de antibióticos betalactámicos como las amino-,carboxi- y ureidopenicilinas (ampicilina, ticarcilina y piperacilina respectivamente), cefalosporinas de tercera y cuarta generación (excepto cefamicinas) y monobactámicos (aztreonam) pero no carbapenemas (imipenem, meropenem). Esta acción hidrolítica es inhibida por ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam (inhibidores de betalactamasas).

Las BLEEs se encuentran codificadas en plásmidos lo que permite su amplia y fácil diseminación no sólo entre cepas de la misma especie sino también entre cepas de distintas especies. Su aparición es especialmente importante por el amplio patrón de resistencia que provocan y son las responsables de infecciones

nosocomiales graves pero también de infecciones de menor gravedad aunque más frecuentes como las infecciones urinarias (ITU).

El perfil de multirresistencia asociado a otros antibióticos no betalactámicos ocasiona un problema terapéutico de notables dimensiones.¹⁵

8.3. Tipos de BLEEs:

8.3.1 SHV: Son las betalactamasas más frecuentes en aislamientos clínicos.¹⁶ Su nombre hace referencia a “sulfhydryl variable”. La primera betalactamasa descrita, SHV-2, sólo difería en el cambio de una glicina por una serina en la posición 238 de su progenitora SHV-1. Desde su descubrimiento hace algo más de 15 años, se han encontrado organismos con BLEEs tipo SHV en todos los continentes, sugiriendo que el incremento de la utilización de cefalosporinas de tercera generación ha sido el factor responsable de su expansión.¹⁶

Se ha descrito este tipo de BLEEs en un amplio rango de Enterobacteriaceae y en brotes de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.

8.3.2. TEM: Las siglas TEM se derivan de las iniciales del primer paciente en quien fue aislada una *E. coli* productora de β -lactamasa en 1965. Derivan de las betalactamasas clásicas TEM-1 y TEM-2 que se aislaron por primera vez en una paciente griega llamada “Temoneira”. Retrospectivamente, la primera BLEE aislada se describió en Liverpool en 1982 en un aislamiento de *Klebsiella oxytoca* y que portaba un plásmido de resistencia a ceftazidima, hoy se conoce como TEM-12.¹³ Desde entonces, más de 100 TEM han sido descritas, la mayoría BLEEs. Algunas de estas BLEEs son conocidas con más de un nombre.¹⁷

8.3.3. CTX-M y Betalactamasas Toho: Su nombre refleja la potente actividad hidrolítica de este tipo de enzimas frente a cefotaxima. Además muchas de las betalactamasas tipo CTX-M hidrolizan también ceftazidima y cefepimas aunque con menor eficacia. La actividad frente a aztreonam es variable. La capacidad inhibitoria de tazobactam es casi diez veces mayor que la del ácido clavulánico. Derivan de betalactamasas cromosómicas de distintas especies del género *Kluyvera*. Debemos tener en cuenta que un mismo organismo puede contener betalactamasas tipo CTX-M y SHV o CTX-M y AmpC simultáneamente, lo que altera su patrón de resistencia antibiótica.

Toho-1 y Toho-2, también conocidas como CTX-44 y CTX-45 respectivamente,¹⁷ son betalactamasas estructuralmente relacionadas con las del tipo CTX-M. Su actividad hidrolítica también es más eficaz frente a cefotaxima que a ceftazidima.

8.3.4 OXA: Las betalactamasas tipo OXA deben su nombre a su capacidad de hidrolizar la oxacilina. Pertenecen al grupo 2d de la clasificación de Bush (tabla 1). Predominan en *Pseudomonas aeruginosa* pero también se han detectado en otras BGN. No todas las betalactamasas de este tipo son BLEEs (OXA-10-11, 14-20, -28, 31-32, -35 -45).

La evolución de las BLEEs tipo OXA a partir de sus predecesoras de espectro más reducido tiene muchas semejanzas con la evolución de las BLEEs tipo SHV y TEM.

8.3.5 PER: Las BLEEs tipo PER comparten entre un 25 y un 27% de homología con las BLEEs del tipo TEM y SHV. Fueron originariamente descritas en Turquía en *Pseudomonas aeruginosa* y más tarde en *Salmonella enterica*, *Acinetobacter*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Alcaligenes faecalis* y *Vibrio cholerae*.

8.3.6 VEB-1, BES-1 y otras BLEEs: Se están describiendo continuamente nuevas betalactamasas por toda la diversidad geográfica. VEB-1 tiene homología con PER-1 y PER-2, confiere resistencia a ceftazidima, cefotaxima y aztreonam, y es inhibida por ácido clavulánico. Esta acción está mediada por un plásmido que además confiere resistencia a otros antibióticos no betalactámicos. Fue originariamente descrita en un paciente vietnamita hospitalizado en Francia.¹⁴ GES, BES, TLA, SFO y IBC son otros ejemplos de BLEEs no TEM no SHV que se han ido descubriendo a lo largo de los cinco continentes en los últimos años.¹⁴

9. ANTIBIOGRAMA IMPORTANCIA

La identificación del microorganismo que permitirá su clasificación dentro de un grupo taxonómico ya establecido, se hará sobre criterios morfológicos (mediante examen microscópico-macroscópico del aislamiento) y metabólicos(a través de procesos bioquímicos automatizados).

La determinación de la sensibilidad in vitro de las bacterias a los antibióticos se hará por métodos bioquímicos (por ejemplo la detección directa de la producción de betalactamasas) y métodos fenotípicos, obteniéndose el antibiograma, es decir, el estudio de susceptibilidad antibiótica del microorganismo productor de la infección, mediante técnicas estandarizadas que permitirán relacionar los resultados obtenidos con criterios clínicos de sensibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia.³

Desde el punto de vista cuantitativo, la actividad de los antimicrobianos se establecerá midiendo los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI).

La CMI será la menor concentración de antimicrobiano, expresado en mg/l o µg/ml, capaz de inhibir el crecimiento bacteriano en 10⁵ unidades formadoras de colonias (UFC), esto es, bacterias viables en un mililitro de medio de cultivo. Estos resultados cuantitativos los proporcionarán las técnicas de dilución.¹⁷

La interpretación del antibiograma implicará la transformación de los valores de CMI o de los halos de inhibición en categorías clínicas cualitativas (sensible, intermedio o resistente), debido a criterios microbiológicos, farmacológicos y clínicos que se establecerán basándose en los puntos críticos de resistencia microbiológica, definidos por distintos comités como el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).³

9.1. Acción Patógena de las enterobacterias

Las enterobacterias presentan los siguientes factores determinantes de patogenicidad:

a) Antígenos estructurales de superficie, antígenos capsulares (antígenos K) y fimbrias (antígenos F) que actúan por sus propiedades antifagocitarias, o de seroresistencia o su capacidad de adherencia.

También algunas enterobacterias pueden desarrollar glicocalix que les permiten adherirse a materiales inertes (catéteres, prótesis) y expresar su acción patógena.

b) Bacteriocinas: Son proteínas que presentan propiedades tóxicas frente a cepas de la misma especie o de especies relacionadas que les facilita la colonización de las mucosas al inhibir el desarrollo de especies relacionadas.

Algunas cepas de enterobacterias (*E.coli*, *K pneumoniae*, *S marcescens*) producen Bacteriocinas.

c) Endotoxinas: algunas cepas producen enterotoxinas que actúan ya sea por acción tóxica directa sobre las células del epitelio intestinal o del endotelio vascular (enterotoxinas citotóxicas) o produciendo un estímulo funcional, generalmente a través de la adenilciclase (enterotoxinas citotóxicas). Las enterotoxinas mejor conocidas son las de *E. coli*, pero también se han señalado en otras enterobacterias (*Salmonella*, *Shigella*, etc.)

9.3. Factores de riesgo

Conocer los factores de riesgo que predispusieron a las infecciones supuso un elemento esencial. En este estudio se dividieron los factores de riesgo en dos tipos: intrínsecos, que son aquellos inherentes al propio enfermo como las enfermedades de base de los pacientes que ingresaron y que fueron merecedoras de un cultivo de sangre para su estudio microbiológico, y factores extrínsecos, que son aquellos factores exógenos que se asociaron al uso de catéter, sondas, prótesis o dispositivos intravasculares.⁷

El determinar su incidencia, la frecuencia de resistencia/sensibilidad de los distintos patógenos aislados, así como la caracterización de la población afectada por edad, sexo, permitía conocer los agentes que provocaron una bacteriemia, así como establecer una correcta selección de los antimicrobianos, incluyendo los de nueva generación como son la tigeciclina, daptomicina y linezolid, reduciéndose así la formación de multirresistencias futuras.

9.4. Microorganismos frecuentes:

La invasión del aparato urinario sano está restringida a un grupo de microorganismos, conocidos como "uropatógenos", que son capaces de

sobrepasar, soslayar o minimizar los mecanismos de defensa del huésped. Por ejemplo, en *E. coli* se han identificado cuatro grupos filogenéticos (A, B1, B2 y D); mientras que las cepas comensales derivan en su mayoría del Ay B1 y poseen muy pocos factores de virulencia, las cepas uropatógenas derivan principalmente del B2 y tienen bastantes genes de virulencia.

Los microorganismos que se aíslan de orina van a variar según las circunstancias del paciente y sus enfermedades de base. La etiología de las ITU se ve modificada por factores como la edad, la diabetes, la obstrucción del tracto urinario, las lesiones de médula espinal o la cateterización urinaria. Por ello, microorganismos raramente implicados en ITU de población sana pueden causar enfermedad en pacientes con trastornos anatómicos, metabólicos o inmunológicos.

La exposición a antibióticos y el antecedente de hospitalización también van a condicionar diferencias en el perfil etiológico.

Más del 95% de las ITU están causadas por una única especie bacteriana. *E. coli* causa entre el 75-95% de los episodios de cistitis aguda no complicada. *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* y enterococos son responsables de la gran mayoría de los episodios restantes. Los uropatógenos en la gran mayoría de las veces vienen de la propia microbiota intestinal. En pielonefritis no complicada, los agentes etiológicos son similares a los que causan cistitis no complicada y también es similar su patrón de resistencia a los antibióticos. En más del 80% de los casos de pielonefritis aguda el agente causal es *E. coli*.

En ITU recurrente y especialmente en ITU complicada (uropatía obstructiva, anomalías urinarias congénitas, vejiga neurógena, etc.), aunque *E. coli* sigue siendo el principal agente causal, la frecuencia relativa de infección causada por *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, enterococos y estafilococos se incrementa de forma significativa. En presencia de anomalías estructurales no es infrecuente aislar más de un microorganismo en el urocultivo. En estos pacientes es común la instrumentación del tracto urinario y tratamientos antibióticos repetidos, lo que hace que las bacterias aisladas, incluidas las más habituales como *E. coli*, sean más resistentes a antibióticos.

10. Variables:**10.1. Variable independiente:**

Urocultivos positivos procesados en el lapso de tiempo de estudio.

Características epidemiológicas como

- Edad, se agruparan según las siguientes edades: de 18 a 31; 32 a 45; 46 a 57; 58 a 70; y 71 a 83 años.
- Sexo, serán divididos en masculino y femenino.
- Servicio de procedencia, sean ambulatorios (medicina, medicina interna, ginecología, urología, nefrología, reumatología) u hospitalizados (medicina, medicina interna, UCI, ginecología, etc)
- Factores asociación con otra afección, diabetes, hipertensión, IRA etc.

10.2. Variable dependiente:

Enterobacterias aisladas en los urocultivos positivos capaces de presentar BLEE positivo.

Operacionalización de variables:

Tabla 1. Operacionalización de variables				
Variable	Concepto	Dimensión	Indicador	Escala
Edad	Tiempo de vida transcurrido desde el nacimiento del individuo	Años cumplidos	DNI	18 - 31 años 32 - 45 años 46 - 57 años 58 - 70 años 71 – 83 años
Agente etiológico	Microorganismo capaz de actuar en el organismo y ser nocivo si su presencia da inicio a una enfermedad	Diferenciación morfológica	Gram negativos	Cocobacilos Bacilos
Antibióticos	BLEE	CIM	Antibiograma	Sensible Intermedio Resistente

Capitulo III Aspectos metodológicos

11. Metodología:

Estudio Observacional, descriptivo retrospectivo y transversal. Se utilizaran urocultivos positivos de los pacientes ambulatorios y hospitalizados con BLEE positivo en el Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre del 2015.

11.1. Urocultivo:

Se tomara las muestras siguiendo las normas de bioseguridad. Para la siembra en placas de la muestra se tomará una asada de 1 ul de orina y se estiará sobre la superficie de Agar Sangre y luego otra asada para Agar Mc Conkey; los cultivos serán incubados de 35 a 37°C y la lectura se realizará a las 24 y 48 horas. Los microorganismos serán identificados por el sistema Labpro del equipo Walkaway. Los inóculos de las muestras deben ser de un medio no selectivo, en este caso se recomienda usar el Mc Conkey.

Luego se realiza la identificación y antibiograma respectivo por CIM en el equipo automatizado Walka way 96 plus, dependiendo del microorganismo aislado en el aislamiento primario se inocularan en los paneles GN 55 siguiendo los procedimientos estandarizados en la UPS de microbiología(Gram negativos urinarios).¹⁷

11.2. POBLACIÓN

La población del estudio estará conformada por pacientes adultos (mayores de 18 años), masculino o femenino con urocultivos positivos de enterobacteriáceas aisladas durante el periodo de estudio.

11.3. MUESTRA

Pacientes atendidos en el hospital III Iquitos EsSalud, en el periodo de tiempo comprendido, de los cuáles se toman el 100% de casos que presentaron enterobacteriáceas BLEE (+). El estudio presenta una muestra finita

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Donde:

- N = Total de la población
- Z_{α} = 1.96 al cuadrado (si la seguridad es del 95%)
- p = proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)
- q = 1 – p (en este caso 1-0.05 = 0.95)
- d = precisión (en su investigación use un 5%).

11.4. CRITERIOS DE INCLUSION

Todas las cepas de urocultivos positivos de enterobacterias aisladas en el periodo indicado. Que sean BLEE positivo.

11.5. CRITERIOS DE EXCLUSION:

Todas las cepas que no pertenecen a las enterobacterias en el periodo indicado, y que sean BLEE negativo.

12. Técnicas, Instrumentos y Procedimientos de Recolección de Datos

12.1 Técnica de Recolección de Datos. La información a usar se recopilara de las hojas de trabajo del área de microbiología del laboratorio del Hospital III Iquitos ESSALUD, en el periodo comprendido por el estudio.

12.2 Instrumento de Recolección de Datos: Se realizará por el físico de las hojas de trabajo, resultados emitidos, se usara como archivo una memoria USB, se usaran hojas de cálculo Microsoft Excel 2010 y datos del sistema labpro del equipo Walka way 96 plus.

13. Procedimientos de Recolección de Datos.

- a. **Procesamiento de Información:** Se realizara en hoja de cálculo Microsoft Excel 2010, se usara estadística paramétrica.
- b. **Ética de investigación:** Los resultados del presente estudio son estrictamente confidenciales, sin utilizar nombre propio y solo serán usados para fines de estudio, no existe riesgo de daño al paciente.

14. Resultados:

Enterobacterias	
BLEE NEGATIVO	632
BLEE POSITIVO	383
TOTAL	1015

Tabla 3. Prevalencia de enterobacterias BLEE positivo en el Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015

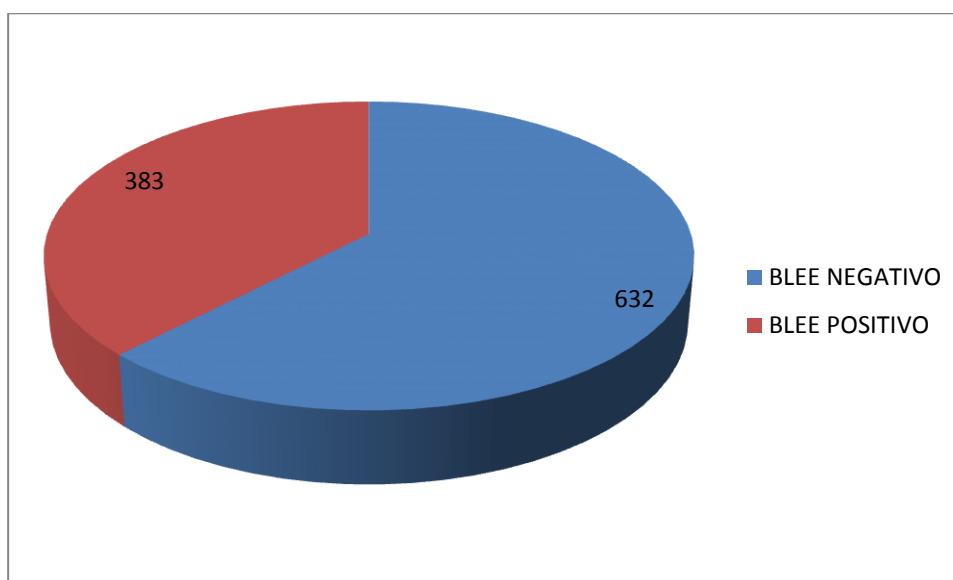


Figura 1 Prevalencia de enterobacterias BLEE positivo en el Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.

Se observa que de 1015 cultivos positivos procesados, 383 fueron BLEE positivo (37.73%) y 632 fueron BLEE negativo (62.27%).

BLEE (+)	Casos
ORINA	308
Pta catéter	5
Hemocultivo	18
Sec bronquial	16
Sec. Faríngea	18
Sec vaginal	6
Semen	4
PVC	3
otros	5
Total	383

Tabla 4. Prevalencia de enterobacterias BLEE positivo en el Hospital III Iquitos, según muestra usada en el aislamiento, de enero a diciembre 2015.

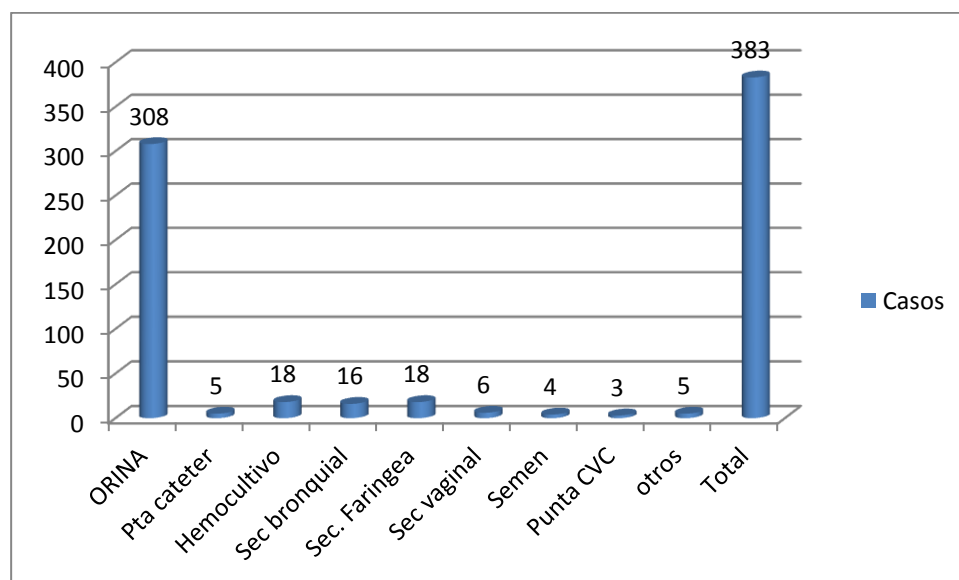


Figura 2. Prevalencia de enterobacterias BLEE positivo en el Hospital III Iquitos, según muestra usada en el aislamiento, de enero a diciembre 2015.

Como se observa los casos de orina son los más representativos con 308 casos (80.41%) y el que menos casos presento fue el de punta de catéter venoso central (CVC) (0.78%).

Frecuencia	Casos
E.coli	232
Klebsiella oxytoca	20
Klesiella pneumoniae	110
Proteus mirabilis	11
Pseudomona euroginosa	10
Total	383

Tabla 5. Frecuencia de bacterias BLEE positivos aisladas en el Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.

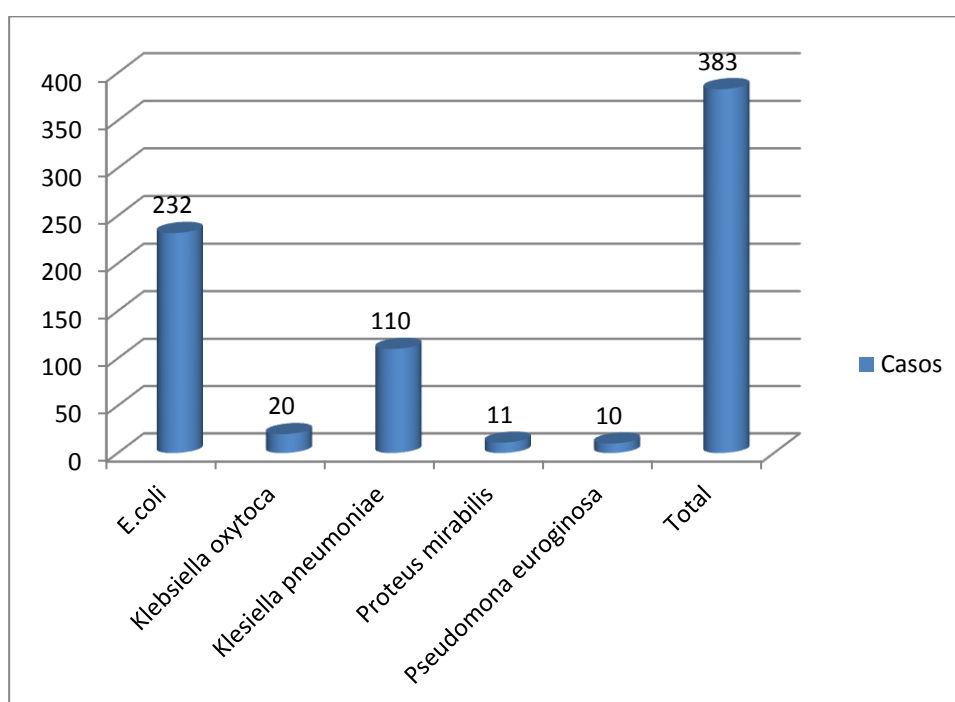


Figura 3. Frecuencia de bacterias BLEE positivo aisladas en el Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.

Se observa que el que presenta mayor cantidad de casos es el E. coli con 232 (60.57%), seguido de Klebsiella pneumoniae con 110 casos (28.72%), luego Klebsiella oxytoca con 20 casos (5.22%) y el que presenta menor cantidad de casos es la Pseudomona aeruginosa con 10 casos (2.61%).

Bacteria	casos
E. coli	206
Klebsiella oxytoca	17
Klebsiella pneumoniae	77
Proteus mirabilis	8
Pseudomona aeruginosa	0
Total	308

Tabla 6. Prevalencia de bacterias BLEE positivo de los urocultivos del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.

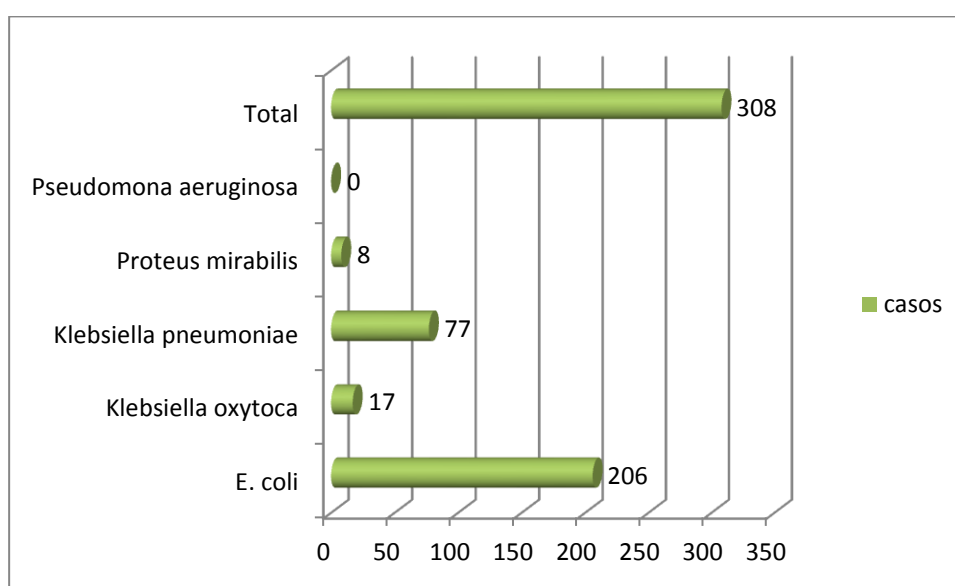


Figura 4. Prevalencia de bacterias BLEE positivo de los urocultivos del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.

La bacteria con mayor número de casos fue el E. coli con 206 casos (66.88%), seguido de Klebsiella pneumoniae con 77 casos (25%), Klebsiella oxytoca con 17y con menor número de casos el Proteus mirabilis con 8 casos.

Edad	Masculino	Femenino
18 a 31	3	42
32 a 45	8	33
46 a 57	11	49
58 a 70	17	102
71 a 83	21	22
Total	60	248

Tabla 7. Distribución de pacientes según edad y sexo en los pacientes con BLEE del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.

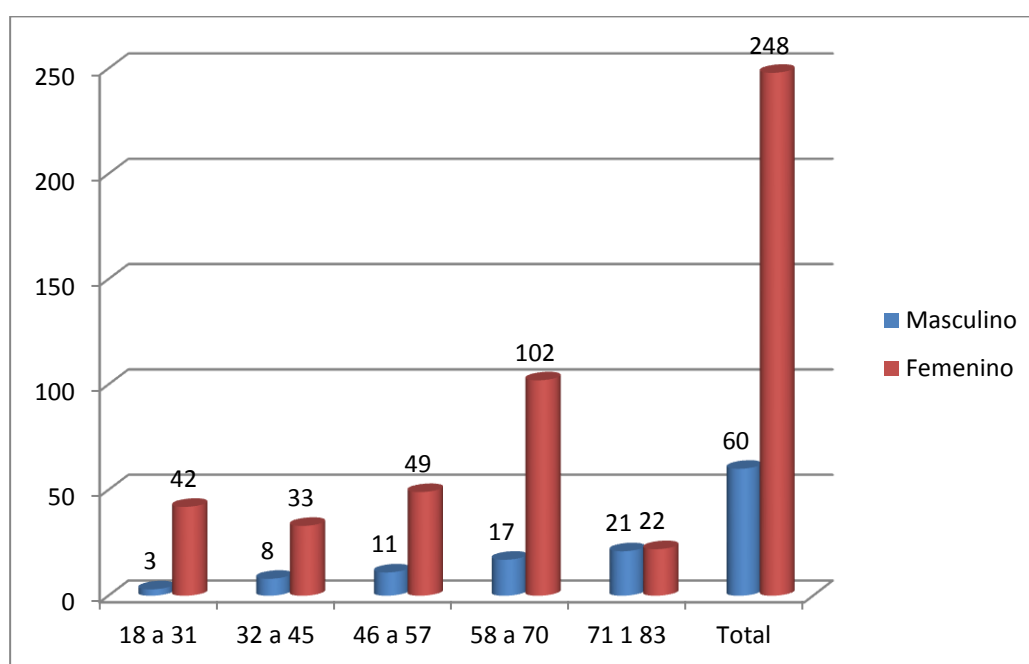


Figura 5. Distribución de pacientes según edad y sexo en los pacientes con BLEE del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.

El grupo etareo que presento mayor cantidad de casos en el sexo femenino fue el de 58 a 70 años con 102 casos, para el sexo masculino la mayor cantidad de casos se dieron entre los 71 a 83 años con 21 casos.

Para el sexo femenino la menor cantidad de casos se dieron entre los 71 a 83 años con 22, en el sexo masculino la menor cantidad de casos fue de 18 a 31 años con 3 casos.

SERVICIO	CASOS
CAI	4
EMERGENCIA	61
GERIATRIA	2
MEDICINA	124
PRE NATAL	12
GINECOLOGIA	13
ENDOCRINOLOGIA	25
HEMATOLOGIA	3
LABORATORIO	2
NEFROLOGIA	7
NEUMOLOGIA	1
OBSTETRICIA	1
TRAUMATOLOGIA	1
PADOMI	27
UCI	3
UROLOGIA	21
REUMATOLOGIA	1
TOTAL	308

Tabla 8. Servicios donde se detectaron BLEE positivo en los urocultivos del Hospital III ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015.

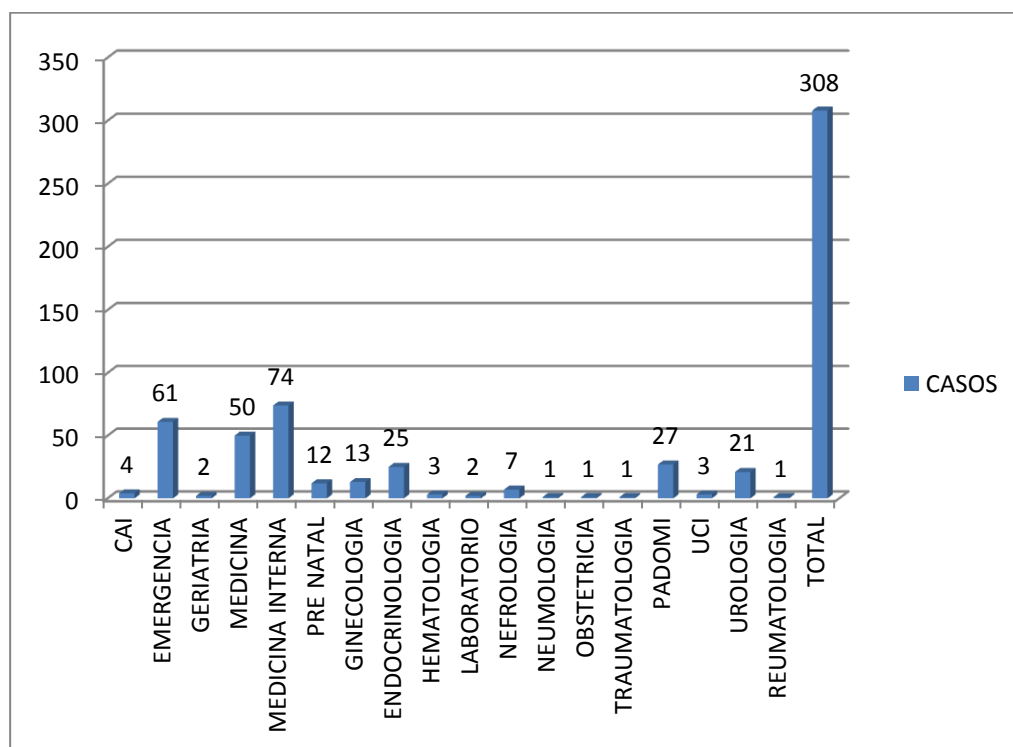


Figura 6. Servicios donde se detectaron BLEE positivo en los urocultivos del Hospital III ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015.

Donde se observa la mayor cantidad es en el servicio de Medicina con 124 pacientes; emergencia con 61 casos; y PADOMI (Programa de Atención Domiciliaria) con 27.

Donde tenemos menos casos es en los servicios de Obstetricia; Neumología; Traumatología y Reumatología con 1 caso.

SERVICIO	AMBULATORIO	HOSPITAIZADOS
CAI	4	0
EMERGENCIA	61	0
GERIATRIA	2	0
MEDICINA	94	30
PRE NATAL	12	0
GINECOLOGIA	8	5
ENDOCRINOLOGIA	25	0
HEMATOLOGIA	3	0
LABORATORIO	2	0
NEFROLOGIA	7	0
NEUMOLOGIA	0	1
OBSTETRICIA	0	1
TRAUMATOLOGIA	1	0
PADOMI	27	0
UCI	0	3
UROLOGIA	21	0
REUMATOLOGIA	1	0
TOTAL	268	40

Tabla 9. Frecuencia de enterobacterias BLEE positivo de los urocultivos según procedencia (Ambulatorio/Hospitalizado) del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.

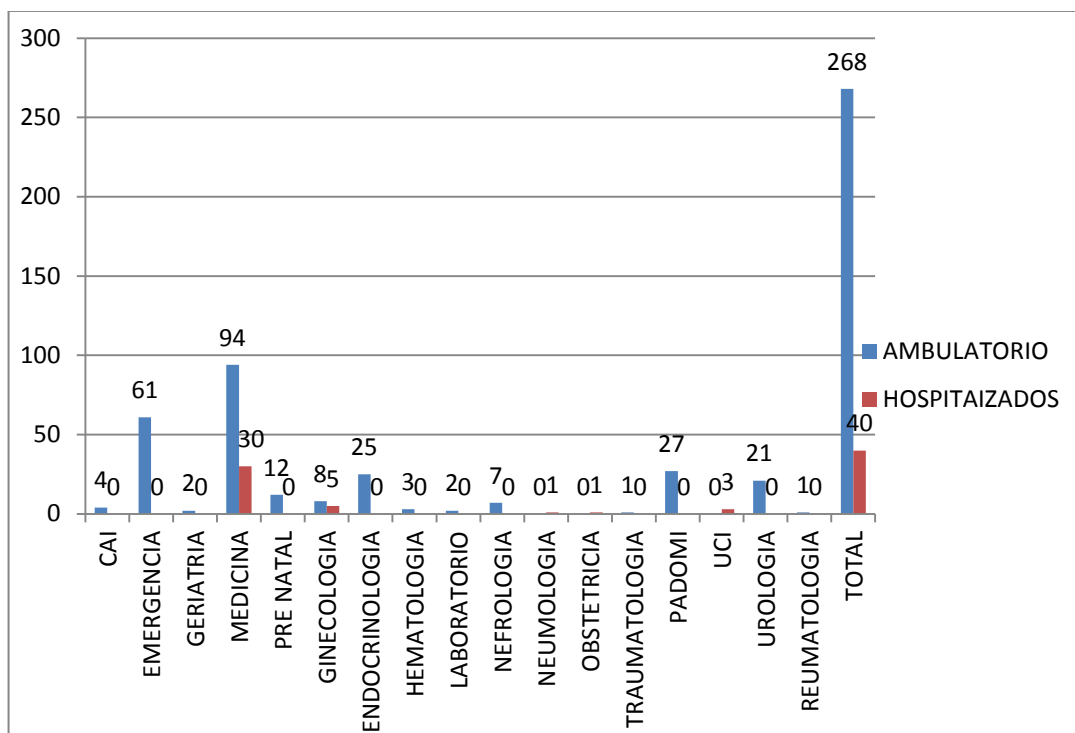


Figura 7. Frecuencia de enterobacterias BLEE positivo de los urocultivos según procedencia (Ambulatorio/Hospitalizado) del Hospital III Iquitos ESSALUD de enero a diciembre 2015.

Donde hubo mayor cantidad de BLEE positivo fue en los pacientes ambulatorios, el servicio que presento mayor cantidad ambulatorios fue el de medicina con 94 casos, donde se presentaron la menor cantidad de casos fue en CAI (consulta de atención inmediata) con 4 casos.

Los hospitalizados con más casos fueron medicina con 30 casos y Ginecología con 5. Los hospitalizados con menos casos fueron UCI con 3 casos, seguido de Neumología y Obstetricia con 1 caso respectivamente.

Sintomatología	Casos
ITU recurrente	190
Diabetes	64
Hipertensión	39
IRA	9
Otros	6
Total	308

Tabla 10. Factores asociados en pacientes con BLEE positivo en adultos del Hospital III
ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015.

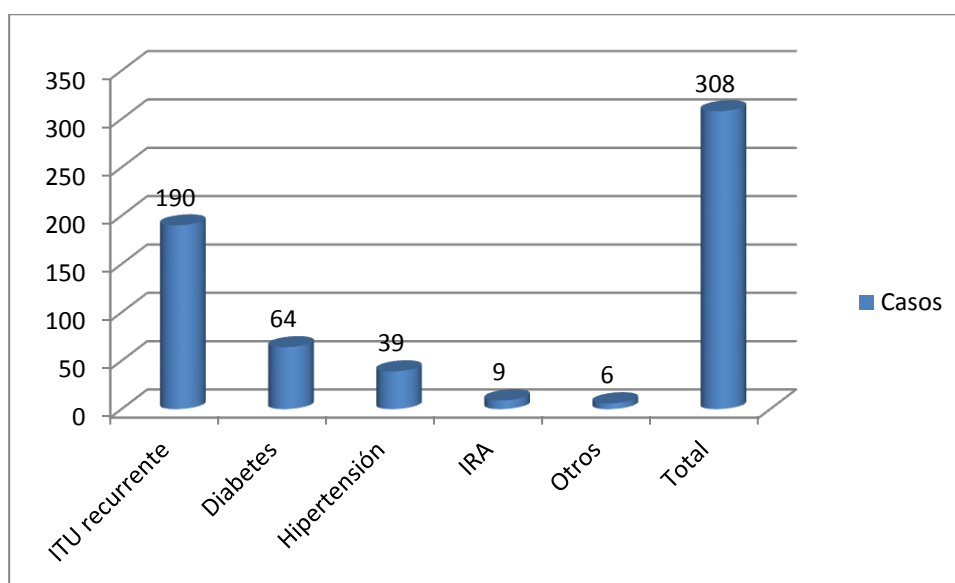


Figura 8. Factores asociados en pacientes con BLEE positivo en adultos del Hospital III
ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015.

Los pacientes que presentaron ITU (infección del tracto Urinario recurrente) fue de 190, los Diabéticos 64, Hipertensión 39, IRA (Insuficiencia respiratoria aguda) 9 y otros fue de 6.

15. Discusión:

De los resultados del estudio de Huaman, Victor, 2012, Lima, en su estudio de Detección fenotípica de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido aisladas en urocultivos de gestantes. Lima, Perú.

Encuentra que de 265 muestras de orina de gestantes que se recolectaron, 25.2% (67) presentan crecimiento en el cultivo. Halla 73.2% (49) enterobacterias, en las cuales la *Escherichia coli* ocupó el primer lugar con 65.8% (44), seguida por *Klebsiella pneumoniae* 5.9% (4) y *Morganella morganii* 1.5%

En el presente estudio se encuentran 308 casos de BLEE positivo realizado por micro dilución en equipo automatizado Micro Scan. Se encuentran 206 muestras para *E. coli* (66.88%) y en segundo lugar *Klebsiella pneumoniae* con 77 aislamientos (25%), en nuestro estudio no se aisló *Morganella morganii*.

Llenque Diaz Luis, Trujillo 2011, en su trabajo betalactamasas en cultivos de *Escherichia coli* aislados de urocultivos, coprocultivos y de alimentos de la ciudad de Trujillo 2011.

Los porcentajes siguen siendo similares si tomamos en cuenta que nosotros trabajamos solamente con urocultivos y *E. coli* es el principal microorganismo aislado.

Paredes Gago Rolando, en su trabajo Prevalencia de enterobacteriáceas productoras de betalactamasas de espectro extendido (Blee) en la clínica Good Hope durante el periodo marzo – agosto del 2012, reporto; Entre los meses de marzo-agosto del 2012 se aislaron 1672 enterobacteriáceas, de las cuales, el 21.2% (354 casos). Nosotros encontramos 1015 aislamientos, de los cuales 308 fueron BLEE positivo fueron.

El 85% (301) fueron del sexo femenino y 15% (53) fueron del sexo masculino; La edad media de los pacientes con enterobacteriáceas BLEE (+) fue de 57.03 ± 26.17 Años.

Nosotros que el 80.52% (248) fueron de sexo femenino y el 19.48% de sexo masculino. Con un ligero incremento en nuestros datos en este punto.

Las edades donde se mostraron más casos en mujeres fueron de 58 a 70 años y en varones fue el mismo.

Las enterobacteriáceas BLEE (+) aisladas más importante fueron *Escherichia coli* (80.5%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (11.3%) y *Proteus mirabilis* (3.4%). Al hacer el análisis según la procedencia, se mantuvo la misma proporción tanto en los pacientes ambulatorios como en los hospitalizados. No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes ambulatorios y los hospitalizados.

En nuestro estudio además de *Klebsiella pneumoniae*, encontramos *Klebsiella oxytoca* y si se evidencia una diferencia estadística entre pacientes ambulatorios 12.99% contra 87.01% de ambulatorios.

16. Conclusiones

1. La prevalencia de enterobacterias BLEE positivos en urocultivos de pacientes adultos en el Hospital III ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015 fue de 308 (80.42%).
2. La prevalencia de bacterias aisladas en cultivos de adultos del Hospital III ESSALUD Iquitos de enero a diciembre 2015 productoras de BLEE fue de 363 casos (37.73%).
3. Las enterobacterias BLEE positivas aisladas con mayor frecuencia, tanto en los pacientes ambulatorios como hospitalizados del Hospital III ESSALUD Iquitos fueron: *E. coli* con 206 (66.88%), *Klebsiella pneumoniae* 77 (25%), *Klebsiella oxytoca* 17 (5.52%) y *Proteus mirabilis* 8 (2.60%).
4. Las especies productoras de BLEE en los pacientes ambulatorios proceden de las muestras solicitadas por los servicios de Medicina (36.07%), Emergencia (22.76%), y PADOMI (10.07%), en tanto las muestras de pacientes hospitalizados proceden del servicio de Medicina (11.19%).
5. Las enterobacterias BLEE positivas en pacientes ambulatorios fue de 268 (87.01%) y los hospitalizados de 40 (12.98%), en el periodo de estudio.
6. Los pacientes que mostraron factores asociados a BLEE positivo fueron: ITU recurrente fue de 190 (62%), Diabetes 64 (21%), hipertensión 39 (12%).

17. Recomendaciones:

1. Se deben establecer medidas de control para buscar especies productoras de BLEE en los establecimientos de salud, lo cual implica que las autoridades sector público y privado asuman esta responsabilidad.
2. Equipar los laboratorios de microbiología con reactivos y equipos mínimo necesarios, así como el entrenamiento y capacitación permanente de sus recursos humanos.
3. Implementar programas periódicos de control de calidad en microbiología en general.
4. Se debe de evitar el uso de antibióticos de manera irracional porque favorece la resistencia bacteriana, en especial en la población ambulatoria, dado que, nuestra investigación demuestra que las enterobacterias BLEE positivas son más frecuentes por lo que, suponemos reciben tratamiento con antibióticos inadecuados.
5. Los principales centros de estudios deberían financiar o subvencionar estudios de investigación de mayor complejidad para la tipificación de las bacterias productores de BLEE, que permitan enfrentar adecuadamente los cuadros clínicos infecciosos producidos por estos gérmenes.

18. Factores facilitadores:

- Adecuado ambiente de trabajo.
- Materiales y equipos adecuados para realizar los urocultivos.
- Infraestructura y equipos adecuados para realizar el trabajo.
- Apoyo logístico y administrativo del Hospital III ESSALUD Iquitos.
- Equipos de Laboratorio cuentan con servicio técnico preventivo y correctivo.

19. Factores limitantes:

- La concurrencia al servicio se ve limitada por la cantidad de usuarios que acuden al hospital.
- Algunos usuarios por tener poder adquisitivo optan por ir a una clínica.
- La toma de muestra de los urocultivos no está estandarizada en los servicios del hospital.

20. Cronograma de Actividades:

N	Actividad	2017				
		Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto
1	Diseño de los instrumentos de recolección de información	X	X			
2	Aplicación de los instrumentos de recolección de datos			X		
3	Procesamiento de la información			X		
4	Análisis e interpretación de la información				X	
5	Redacción del reporte de investigación				X	
6	Formulación de conclusiones y recomendaciones				X	
7	Presentación y revisión					X
8	Aprobación y sustentación					X

21. Presupuesto:

Partidas	Montos (nuevos soles)
Viáticos	300.00
Combustible y lubricantes	200.00
Refrigerios	200.00
Útiles de oficina	200.00
Servicios públicos	100.00
Otros	1500.00
Total	2500.00

22. Referencia bibliográfica:

1. Asmat Marrufo Percy, Detección de betalactamasas de espectro extendido en cepas de Escherichia coli aisladas de urocultivos de tres hospitales de la ciudad de Trujillo-Perú, noviembre 2014.
2. Hernández E. Escherichia Coli productores de BLEE aislados de urocultivo: Implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la Infección Urinaria. 2009. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid España.
3. Paredes Gago Rolando, Prevalencia de enterobacteriáceas productoras de betalactamasas de espectro extendido (Blee) en la clínica Good Hope durante el periodo marzo – agosto del 2012, Lima Perú.
4. Alvarez Almanza David, Identificación de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias, Revista Habanera de Ciencias Médicas 2010:9(4) 516-524.
5. Cercenado Emilia y col. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos, Procedimientos de microbiología médica, SEIM, España 2011.
6. Huaman Cardenas Victor, Detección fenotípica de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido aisladas en urocultivos de gestantes. Lima, Perú, 2012
7. Prevalencia de Betalactamasa de espectro extendido (BLEE) en Enterobacterias provenientes de urocultivos de paciente ambulatorios, Mar del Plata argentina, 2007
8. Amado NY, Fajardo HD, Ramírez-Rueda RY, González GI. Prevalencia de betalactamasas de espectro extendido en bacilos gramnegativos de una institución de salud de Tunja (Colombia) en el año 2013. Salud Soc Uptc. 2014;1(2):54-60

9. Jorge Geovanny Guamán Rojas, "Resistencia bacteriana por producción de blactamasa de espectro extendido en enterobacterias en pacientes del hospital Vicente Corral Moscoso. enero-diciembre 2013, Cuenca Ecuador 2015.
10. Llenque Diaz Luis Alberto, Betalactamasas en cultivos de *Escherichia coli* aislados de urocultivos, coprocultivos y de alimentos de la ciudad de Trujillo 2011.
11. Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 26 th ed. Pennsylvania, 2016 USA
12. Mac Graw Hill Interamericana, Harrison principios de medicina interna 16 edición, 1715-1722
13. Morejon García Moisés, Betalactamasas de espectro extendido, Rev cubana med vol.52 no.4 Ciudad de la Habana oct-dic. 2013
14. Larson LL and Ramphal R. Extended-Spectrum β -Lactamases. Semin Respir Infect. 2002; 17(3):189-94.
15. Pujol M and Peña C. El significado clínico de las betalactamasas de espectro extendido. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003; 21(2):69-71.
16. Jacoby GA. Extended-spectrum beta-lactamases and other enzymes providing resistance to oxymino-beta-lactams. Infect Des Clin N Am. 1997; 11:875-87.
17. Coque TM, Oliver A, Pérez-Díaz JC, Baquero F, Cantón R. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum β -lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46:500-10.
18. Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M and Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxima, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens* . Infection. 1983; 11:315-7.
19. Paterson DL and Bonomo RA. Extended-Spectrum β -Lactamases: A Clinical Update. Clin Microbiol Rev. 2005; 18(4):657-86.

20. Canton Moreno Rafael, lectura interpretada del antibiograma ¿ejercicio intelectual o necesidad clínica? , Enfermedades infecciosas microbiología clínica, 2002;20(4):176-86
21. Oliver A y Cantón R. Enterobacterias productoras de β -lactamasas plasmídicas de espectro extendido. 2003. Control Calidad SEIMC. Revisiones en bacteriología.
22. Hernández JR, Pascual A, Canton R, Martinez-Martinez L. Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria GEIH. Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003; 21:77-82.
23. Prescott, Harley y Klein, Microbiología, Mc Graw H II- Interamericana de España SA, séptima edición 2009.
24. OMS, Resistencia a los antibióticos, nota descriptiva, Octubre 2016: www.who.int/mediacentre/tactsheets/fs194/es/.
25. Pigrau Carlos, Infección del tracto urinario, Salvat 2013, Madrid España.

23. Anexos:

Anexo Nº1: Ficha de recolección de datos

Panel 55 para bacterias Gram Negativas Urinarias

Antibiótico	Gram negativos			
	Abreviatura	Sensible	Intermedio	Resistente
Amikacina				
Ampicilina				
Amoxicilina/ac. Clavulanico				
Ampicilina/Sulbactam				
Aztreonam				
Cefazolina				
Cefepima				
Cefotaxima				
Cefotetan				
Cefoxitina				
Ceftazidima				
Ceftriaxona				
Cefuroxima axetil (oral)				
Cefuroxima parenteral				
Ciprofloxacina				
Gentamicina				
Imipenem				
Levofloxacina				
Meropenem				
Piperacilina/Tazobactam				
Ticarcilina/A. clavulánico				
Tobramicina				
Trimetoprim				
Trimetoprim/Sulfametoxazol				

MATRIZ DE CONSISTENCIA:

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	JUSTIFICACIÓN
¿Cuál es la prevalencia de betalactamasas de espectro extendido en los urocultivos del Hospital III Iquitos EsSalud de enero a diciembre 2015?	General: Determinar la prevalencia de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias de los urocultivos procesados en adultos del Hospital III Iquitos EsSalud de enero a diciembre 2015	General: NA	Conocer el comportamiento epidemiológico de los microorganismos, en el Hospital III Iquitos EsSalud. El presente estudio nos brindara información de suma importancia para conocer prevalencia y resistencia de los microorganismos más frecuentes aislados en la unidad prestadora de servicio de Microbiología.
	Específicos: • Identificar las características demográficas de la población como edad, sexo y procedencia • Determinar la presencia de especies productoras de BLEE según tipo de servicio hospitalario • Señalar resistencia por BLEE de especies aisladas en pacientes ambulatorios u hospitalizados. • Visualizar la distribución de la resistencia a antibióticos en la cepa productora de BLEE.		