



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO
TIPO AMPC EN CEPAS DE ESCHERICHIA COLI Y SU RELACIÓN CON
LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA”**

Requisito para optar por el Título de Licenciado en Laboratorio Clínico

Autor: Álvarez Medina, Darío Alejandro

Tutora: Lcda. Mg. Toro Villa, Lissette del Pilar

Ambato - Ecuador

Octubre 2017

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutora del Trabajo de Investigación sobre el tema:

“DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AMPC EN CEPAS DE ESCHERICHIA COLI Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA” de Álvarez Medina Darío Alejandro, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del Jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Julio del 2017

LA TUTORA

.....

Lcda. Mg. Toro Villa, Lissette del Pilar

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Proyecto de Investigación **“DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AMPC EN CEPAS DE ESCHERICHIA COLI Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA”** como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de exclusiva responsabilidad de mi persona, como autor de este trabajo de grado.

Ambato, Julio del 2017

EL AUTOR

.....
Álvarez Medina, Darío Alejandro

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis o parte de ella un documento disponible, para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi tesis, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de esta tesis, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Ambato, Julio del 2017

EL AUTOR

.....
Álvarez Medina, Darío Alejandro

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los Miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe del Proyecto de Investigación sobre el tema **“DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AMPC EN CEPAS DE ESCHERICHIA COLI Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA”** de Álvarez Medina, Darío Alejandro estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Octubre del 2017

Para constancia firman

.....
PRESIDENTE/A

.....
1er VOCAL

.....
2do VOCAL

DEDICATORIA

Dedico este Proyecto de Investigación a mis padres, en especial a mi madre por ser un pilar fundamental en mi formación personal y profesional, apoyándome siempre en todo y guiándome con sus consejos y su sabiduría día a día para que pueda realizar mis sueños. Madre gracias por todo, por tu amor, por tu esfuerzo, por tu trabajo y por tu sacrificio para ayudarme a estudiar y terminar mi Carrera Universitaria.

A mis hermanos y mi tío por su paciencia y apoyo incondicional y que siempre han estado presentes en los momentos más importantes de mi vida.

Es mi familia que siempre me han enseñado a ser honesto, responsable, adversario y sobre todo humilde y por nunca abandonarme en los momentos en los que más los necesitaba.

¡Gracias amada familia por ser mi inspiración!

Darío Alejandro Álvarez Medina

AGRADECIMIENTO

Gracias a la Universidad Técnica de Ambato, a la Facultad de Ciencias de la Salud y a la Carrera de Laboratorio Clínico por abrirme las puertas y permitirme alcanzar este tan anhelado sueño de convertirme en un profesional de la salud y ayudar a quien más lo necesite poniendo en práctica todos los valores y enseñanzas que he aprendido en el trayecto de mi formación profesional.

Gracias al Hospital Provincial General de Latacunga por abrirme las puertas de la institución y permitirme realizar mi proyecto de investigación, en especial a la Lcda. Yolanda Almache encargada del Área de Microbiología por su apoyo, enseñanza, colaboración y paciencia y sobre todo por ser mi guía y mentora en todo el proceso de investigación.

Gracias al Lic. Mg. Christian Sosa encargado del Laboratorio Clínico UTA – LAB por apoyarme y orientarme en el desarrollo y culminación de mi proyecto de investigación de la mejor manera posible, por su dedicación y tiempo brindado hacia mi persona.

Gracias a mi Tutora a la Lcda. Mg. Lissette Toro por haberme brindado su tiempo, dedicación, conocimiento y experiencia en la mejora y éxito de este proyecto de investigación.

Gracias a todos mis profesores de toda mi vida estudiantil, quienes por su esfuerzo, sacrificio y ardua labor me he convertido en lo que ahora soy, en especial a la B.Q.F. Gabriela Guaygua por ser una de las pocas profesoras en hacer las clases divertidas y alegres y por brindarme su valiosa amistad.

Y, por último, pero no menos importante gracias a todos mis amigos con los cuales pasé los mejores momentos de mi vida universitaria, en especial a Alonso, Christian, Javier, Paúl, Santiago, Lucas y Ricardo por haber compartido momentos felices y tristes y sobre todo con los cuales empecé y terminé mis estudios universitarios.

¡Gracias a todos ustedes!

Darío Alejandro Álvarez Medina

ÍNDICE GENERAL

PÁGINAS PREELIMINARES

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
SUMMARY	xvii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	2
EL PROBLEMA	2
1.1 TEMA.....	2
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2.1 CONTEXTUALIZACIÓN	2
1.2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	6
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	6
1.4 OBJETIVOS.....	8
1.4.1 OBJETIVO GENERAL.....	8
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
CAPÍTULO II	9
2 MARCO TEÓRICO.....	9
2.1 ESTADO DEL ARTE.....	9
2.2 FUNDAMENTO TEÓRICO.....	14
2.2.1 ENTEROBACTERIACEAE.....	14

2.2.2 ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS	18
2.2.3 INHIBIDORES DE BETALACTÁMICOS	21
2.2.4 BETALACTAMASAS	22
2.2.5 BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE).....	23
2.2.6 BETALACTAMASAS TIPO AmpC	25
2.2.7 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA.....	26
2.3 HIPÓTESIS O SUPUESTOS.....	28
2.3.1 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES.....	28
CAPÍTULO III.....	29
3 MARCO METODOLÓGICO.....	29
3.1 ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN.....	29
3.2 NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	29
3.3 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN	30
3.4 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO	30
3.5 POBLACIÓN	31
3.6 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	31
3.7 DISEÑO MUESTRAL.....	31
3.8 OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES	32
3.9 DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.	34
3.10 ASPECTOS ÉTICOS	55
3.11 CONSENTIMIENTO INFORMADO	55
CAPÍTULO IV.....	56
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
4.1 TABULACIÓN	57
4.2 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS.	74
CAPÍTULO V	75
5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	75
5.1 CONCLUSIONES.....	75
5.2 RECOMENDACIONES	76
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	78
BIBLIOGRAFÍA.....	78
LINKOGRAFÍA.....	79
CITA BIBLIOGRÁFICA BASE DATOS UTA	91
ANEXOS	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1. Clasificación de las cefalosporinas por generaciones.....	20
Tabla N° 2. Clasificación de las Betalactamasas propuesta por Bush, Jacoby-Medeiros.....	22
Tabla N° 3. Variable independiente: Resistencia antimicrobiana.....	32
Tabla N° 4. Variable dependiente: Betalactamasas de Espectro Extendido tipo AmpC en cepas de <i>Escherichia coli</i> ..	33
Tabla N° 5. Cepas de bacterias infecciosas aisladas en urocultivos de los pacientes que acuden al Hospital General Provincial de Latacunga.....	57
Tabla N° 6. Cepas de <i>Escherichia coli</i> aisladas en urocultivos según el sexo.....	59
Tabla N° 7. Cepas de <i>Escherichia coli</i> aisladas en urocultivos según la edad.	61
Tabla N° 8. Cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC.	63
Tabla N° 9. Cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC según el sexo.....	65
Tabla N° 10. Cepas de <i>Escherichia coli</i> productora de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC según la edad.....	67
Tabla N° 11. Antibiograma de BLEE	69
Tabla N° 12. Antibiograma de Betalactamasa AmpC.....	72
Tabla N° 13. Resultados del Gram de gota fresca, urocultivo y pruebas bioquímicas para la detección de <i>Escherichia coli</i>	94
Tabla N° 14. DOCUMENTO CLSI M100 2017 27th EDICIÓN.....	97

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1. Cepas de bacterias infecciosas aisladas en urocultivos de los pacientes que acuden al Hospital General Provincial de Latacunga.....	57
Gráfico N° 2. Cepas de <i>Escherichia coli</i> aisladas en urocultivos según el sexo.	59
Gráfico N° 3. Cepas de <i>Escherichia coli</i> aisladas en urocultivos según la edad.	61
Gráfico N° 4. Cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC.	63
Gráfico N° 5. Cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC según el sexo.....	65
Gráfico N° 6. Cepas de <i>Escherichia coli</i> productora de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC según la edad.....	67
Gráfico N° 7. Antibiograma de BLEE	70
Gráfico N° 8. Antibiograma de Betalactamasa AmpC.....	73

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración N° 1. Estructura da la pared celular Gram negativa.	16
Ilustración N° 2. Factores de virulencia de Gram negativos.	17
Ilustración N° 3. Toma de muestra de orina en hombres (izquierda) y toma de muestra de orina en mujeres (derecha).	36
Ilustración N° 4. Método para introducir verticalmente el asa calibrada en la orina y la técnica de siembra por estría en la placa.	48
Ilustración N° 5. Método para esterilizar el asa calibrada y la técnica de siembra por estría en zigzag en los tubos para las pruebas bioquímicas.	49
Ilustración N° 6. Técnica para realizar la tinción de Gram tras la fijación de la muestra.	50

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía N° 1. Agares para la preparación de los medios de cultivo.	108
Fotografía N° 2. Discos de antibióticos para los antibiogramas.....	108
Fotografía N° 3. Esterilización de los medios.	109
Fotografía N° 4. Distribución de los medios en las cajas Petri.	109
Fotografía N° 5. Envasado de los medios en las cajas petri.	110
Fotografía N° 6. Medios de cultivo listos en las cajas petri.	110
Fotografía N° 7. Medios de cultivo y pruebas bioquímicas.	111
Fotografía N° 8. Colocación de las cajas Petri en la estufa.	111
Fotografía N° 9. Colonias aisladas de <i>Escherichia coli</i>	112
Fotografía N° 10. Pruebas bioquímicas de <i>Escherichia coli</i>	112
Fotografía N° 11. Incubadora para las cajas Petri y pruebas bioquímicas.	113
Fotografía N° 12. Control de la temperatura de la incubadora.	113
Fotografía N° 13. Cepa control de calidad <i>Escherichi coli</i> ATCC 25922 (Medio de cultivo).	114
Fotografía N° 14. Cepa control de calidad <i>Escherichi coli</i> ATCC 25922 (Medio Stuart).....	114
Fotografía N° 15. Cepa de <i>Escherichia coli</i> productora de Betalactamasas de Espectro Extendido.	115
Fotografía N° 16. Cepa de <i>Escherichia coli</i> productora de Betalactamasas de Espectro Extendido. (Prueba confirmatoria propuesto por el CLSI).	115
Fotografía N° 17. Método de aproximación de discos.	116
Fotografía N° 18. Método de sinergia de doble disco.	116

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1. Resolución aprobada por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud sugiriendo la aprobación del Tema de Investigación.	117
Anexo N° 2. Oficio dirigido a la Dra. Inés Guanopatín, Gerente del Hospital General Provincial de Latacunga para solicitar el permiso para la realización del Proyecto de Investigación.	118
Anexo N° 3. Oficio de aceptación y autorización por parte de la Unidad de Docencia e Investigación del Hospital General Provincial de Latacunga para la realización del Proyecto de Investigación.	119
Anexo N° 4. Oficio dirigido al Dr. Mg. Marcelo Ochoa, Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud para solicitar se conceda el espacio físico del Laboratorio Clínico UTA-LAB para la realización de la parte práctica del proyecto de Investigación. .	120
Anexo N° 5. Certificado por parte de la Dra. María Augusta Escudero, responsable del Laboratorio Clínico del Hospital General Provincial de Latacunga de haber realizado el Proyecto de Investigación.....	121
Anexo N° 6. Certificado por parte del Lic. Mg. Christian Sosa, responsable del Laboratorio Clínico UTA-LAB de haber realizado el Proyecto de Investigación...	122
Anexo N° 7. Consentimiento informado para la participación en el Proyecto de Investigación.	123

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AmpC EN CEPAS DE *Escherichia coli* Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA”

Autor: Álvarez Medina Darío Alejandro

Tutora: Lcda. Mg. Toro Villa, Lissette del Pilar

Fecha: Julio del 2017

RESUMEN

Las Betalactamasas AmpC son cefalosporinas producidas por Enterobacterias y son consideradas clínicamente importantes debido a que pueden generar resistencia a penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas y monobactams, además son pobremente inhibidas por el ácido clavulánico, lo que reduce las opciones terapéuticas y aumenta las posibilidades de sufrir un fallo terapéutico durante el tratamiento. Una de las principales Enterobacterias es *Escherichia coli* que es el principal agente de infecciones de vías urinarias en el 95% de los casos.

La presente investigación se enfocó en determinar Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasas tipo AmpC en pacientes con infecciones de las vías urinarias que acuden al Hospital General Provincial de Latacunga. El enfoque de la investigación fue cuali-cuantitativo, aplicando la investigación de campo, laboratorio, descriptiva y correlacional.

Se aislaron 40 cepas de *Escherichia coli*, mediante urocultivos y pruebas bioquímicas. La susceptibilidad antimicrobiana se estableció por el método de disco difusión en agar Muller Hinton por la técnica de Kirby Bauer y se consideró como cepas sospechosas de Betalactamasas de Espectro Extendido a todas aquellas que presentaron halos de inhibición ≤ 27 mm a Aztreonam y Cefotaxima, ≤ 25 mm a Ceftriaxona, ≤ 22 mm a Ceftazidima y si existía una deformación de los halos en forma de “huevo” o “cola de pescado”. Estas cepas fueron sometidas a pruebas de confirmación mediante las recomendaciones de la CLSI con discos combinados con inhibidores mediante discos de Cefotaxima-Acido Clavulánico y Cefotaxima y Ceftazidima-Acido Clavulánico y Ceftazidima. Por otro lado, para la detección de Betalactamasas tipo AmpC se consideró como cepas sospechosas a todas aquellas que presentaron resistencia a las cefalosporinas de tercera generación y a la cefoxitina y fueron puestas a prueba por el método de sinergia de doble disco y el método de disco combinado con inhibidores.

Para asegurar el control de calidad se siguió las instrucciones del manual del CLSI M100-S24, así como utilización de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

Se realizó el análisis estadístico con estadística descriptiva mediante el programa Microsoft Excel donde la frecuencia de *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de espectro extendido fue del 15% y *Escherichia coli* productora de Betalactamasas tipo AmpC fue de 5% afectando en la mayoría al sexo femenino. Se concluyó que si existe relación entre la determinación de Betalactamasas de Espectro Extendido tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli* con la resistencia antimicrobiana.

PALABRAS CLAVES: ENTEROBACTERIAS,
BETALACTAMASAS_DE_ESPECTRO_EXTENDIDO,
BETALACTAMASAS_TIPO_AmpC, *Escherichia coli*,
RESISTENCIA_ANTIMICROBIANA.

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
CAREER OF CLINICAL LABORATORY

**"DETERMINATION OF EXTENDED SPECTRUM BETALACTAMASAS
AmpC TYPE IN EFFECTS OF *Escherichia coli* AND ITS RELATION TO
ANTIMICROBIAL RESISTANCE"**

Author: Álvarez Medina Darío Alejandro

Tutorial: Lcda. Mg. Toro Villa, Lissette del Pilar

Date: July 2017

SUMMARY

AmpC Betalactamasas are cephalosporinases produced by Enterobacterias and are considered clinically important because they can generate resistance to penicillin's, cephalosporin's, cefamycins and monobactams, and are poorly inhibited by clavulanic acid, which reduces therapeutic options and increases the chances of a Therapeutic failure during treatment. One of the main Enterobacteria is *Escherichia coli* which is the main agent of urinary tract infections in 95% of cases.

The present investigation focused on determining Extended Spectrum Betalactamasas and AmpC Betalactamasas in patients with infections of the urinary tract that go to the Provincial General Hospital of Latacunga. The research focus was qualitative-quantitative, applying field, laboratory, descriptive and correlational research.

Forty strains of *Escherichia coli* were isolated using urine cultures and biochemical tests. Antimicrobial susceptibility was established by the diffusion disc method on Muller Hinton agar by the Kirby Bauer technique and was considered as suspicious strains to Extended Spectrum Betalactamasas to all those that presented inhibition halos ≤ 27 mm to Aztreonam and Cefotaxime, ≤ 25 mm a Ceftriaxone, ≤ 22 mm to Ceftazidime and if there was deformation of halos in the form of "egg" or "fish tail". These strains were confirmed by CLSI recommendations with discs combined with inhibitors with Cefotaxime-Clavulanic acid and Cefotaxime and Ceftazidime-Clavulanic acid and Ceftazidime discs. On the other hand, for the detection of AmpC Betalactamasas was used the test by the method of double disc synergy and disc method combined with inhibitors. To ensure quality control, the instructions in the CLSI manual M100-S24 and the use of the strain *Escherichia coli* ATCC 25922 were followed.

Statistical analysis was performed using descriptive statistics using the Microsoft Excel program, where the frequency of *Escherichia coli* with Extended Spectrum

Betalactamasas was 15%, and *Escherichia coli* with AmpC Betalactamasas was 5%, most of which affected the female sex. It was concluded that there is a relationship between the determinations of Extended Spectrum Betalactamases type AmpC in strains of *Escherichia coli* with antimicrobial resistance.

KEYWORDS: ENTEROBACTERIA,
EXTENDED_SPECTRUM_BETALACTAMASES, AmpC_BETALACTAMASES,
Escherichia coli, ANTIMICROBIAL_RESISTANCE.

INTRODUCCIÓN

El mecanismo principal de las Enterobacterias para conferir resistencia a los antibióticos Betalactámicos es la producción de enzimas llamadas Betalactamasas. Actualmente se han descrito más de 200 Betalactamasas, pero la clasificación más utilizada es la propuesta por Ambler y la de Bush-Jacoby-Medeiros en 1995. Las Betalactamas AmpC pertenecen al grupo 1 y a la clase C de dicha clasificación y se encuentran presentes en diversos bacilos Gram negativos y están asociadas con una elevada mortalidad. Estas enzimas se caracterizan porque tienen la capacidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas y monobactams, pero no hidrolizan cefalosporinas de cuarta generación ni carbapenémicos además son pobremente inhibidas por el ácido clavulánico y sulbactam, pero no con piperacilina tazobactam. La detección de las Betalactamas AmpC en el laboratorio es importante para una adecuada interpretación de los estudios de sensibilidad, un marcador idóneo cuando se sospecha de una Betalactamas AmpC es la resistencia a cefoxitina, cefalosporinas de tercera generación y una sensibilidad disminuida a amoxicilina/Ac. Clavulánico. La detección de las Betalactamas AmpC se puede realizar mediante métodos fenotípicos y genotípicos. Los métodos fenotípicos son sencillos y accesibles, mientras que los métodos genotipos requieren técnicas de biología molecular. Esta investigación se enfocó en la detección de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasas tipo AmpC mediante métodos fenotípicos a través del método de sinergia de doble disco y el método de disco combinado con inhibidores, usando discos de ácido borónico, piperacilina tazobactam, cefamicinas, cefalosporinas de tercera generación, monobactams y carbapenémicos. Ante un caso de sospecha de una Betalactamas AmpC no se recomienda tratar al paciente con cefalosporinas de tercera generación porque puede haber un fallo terapéutico durante el tratamiento por lo que se aconseja tratar al paciente con cefalosporinas de cuarta generación y carbapenémicos.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 TEMA

“DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AmpC EN CEPAS DE *Escherichia coli* Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA”

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1 CONTEXTUALIZACIÓN

Las infecciones de las vías urinarias (IVU) continúan siendo actualmente una de los principales motivos de consulta de atención primaria en salud principalmente en las mujeres, y es una de las infecciones más frecuentes tanto en el ámbito hospitalario como en la comunidad. En la mayoría de los casos las IVU son fácilmente tratables, pero existen excepciones en las cuales por diversos factores como el embarazo, anomalías anatómicas, coexistencia de enfermedades crónicas o mutaciones cromosómicas por parte del microorganismo causal las IVU pueden complicarse y traer consigo graves consecuencias para el paciente. (1)

Para ello es necesario tratar al paciente con una antibioticoterapia adecuada, a través del perfil de susceptibilidad antimicrobiana, y es aquí cuando en muchos casos se presenta la resistencia bacteriana disminuyendo las opciones terapéuticas y aumentando la morbilidad. (1)

Aunque la introducción de los antibióticos en el campo de la medicina en su lucha contra las enfermedades infecciosas producidas por bacterias ha salvado millones de vidas y alargado la esperanza de vida ha surgido una nueva amenaza; la resistencia bacteriana, que se traduce como la capacidad que tiene una bacteria para inhibe el efecto del antibiótico. (2)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) revela que la resistencia antimicrobiana es una gran problema de salud pública en crecimiento porque se asocia a una mayor morbilidad y mortalidad debido a que los antibióticos son cada vez menos eficaces en su lucha contra ciertas infecciones como bacteriemias, neumonías, diarreas, infecciones de las vías urinarias, entre otras y para el año 2050, las bacteriemias multirresistentes causaran más muertes que el cáncer y los accidentes de tránsito juntos. (3)

El Centro Europeo para la Prevención y Control de las Enfermedades (ECDC) afirma que más de 25000 personas mueren cada año en países de la Unión Europea por resistencias antimicrobianas, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos, estima que cada año mueren más de 23000 personas por infecciones causadas por bacterias resistentes, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha alertado en África un aumento significativo del 650% de *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente entre los años 2005 y 2012 y en Australia se han encontrado cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE en más del 50% de las aguas residuales de las plantas depuradoras. (2)

Aun cuando existen nuevos antibióticos disponibles en el mercado, la presencia de bacterias multirresistentes es cada vez más frecuente, siendo la producción de BLEE la principal causa de resistencia a los antibióticos Betalactámicos en Enterobacterias, encontradas con más frecuencia en bacterias como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* causantes de infecciones nosocomiales y comunitarias. (4) (2) (5)

La distribución de BLEE es mundial y parece que existe una tendencia a incrementarse. En Europa la prevalencia de *Escherichia coli* esta entre 1 y el 5%, aunque existen diferencias entre distintos países, en España la incidencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de BLEE se encuentra entre el 5 y 10 % y aproximadamente un 60% es de procedencia comunitaria y de infecciones urinarias. Otro estudio en España muestra que cerca del 13 y 16% de Enterobacterias como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* respectivamente son resistentes a antibióticos como la cefotaxima y cerca del 34% de *Escherichia coli* es resistente a las

fluoroquinolonas. En países como Irlanda, Italia y Portugal habido un aumento en la frecuencia del 10 al 25%. (6) (7) (8)

La Organización Panamericana de la Salud (OPS), organismo especializado de salud del sistema interamericano en conjunto con la Organización Mundial de la Salud, dio a conocer que hay una elevada resistencia de BLEE en cepas de *Escherichia coli* hacia las cefalosporinas de tercera generación y las fluoroquinolonas las cuales son dos clases de antibióticos utilizados en las resistencias. (9)

Estudios epidemiológicos sugieren que Latinoamérica con el 34,6% es una de las regiones con más alta incidencia de las infecciones intrahospitalarias producidas por bacterias que presentan resistencias a múltiples antibióticos comparado con Europa con el 19,7% y América del Norte con el 10%. (10)

En Cuba en el año 2014, se realizó un estudio revelando que *Escherichia coli* fue resistente a cefalosporinas de tercera generación y a cefamicinas, lo que sugiere que además de las BLEE existe una hiperproducción de AmpC. (11)

En la ciudad de Quito (Ecuador) en el año 2014 se realizó un estudio en un Hospital de tercer nivel donde se obtuvo Enterobacterias productoras de BLEE mostrando resistencia a las Penicilinas, Cefalosporinas de tercera generación y Aztreonam. (12)

La Dra. Jeannette Zurita, cofundadora y coordinadora de la Red Nacional de Resistencia Bacteriana del Ecuador (REDNARBEC) dio a conocer que *Escherichia coli* a nivel comunitario era resistente a ampicilina y tetraciclina en un 71%, mientras que a nivel hospitalario presento un 77% de resistencia ampicilina. (13)

Por otro lado la epidemiología de las Betalactamasas tipo AmpC en el mundo no se conoce muy bien con certeza debido a la falta de estudios y métodos estandarizados, pero se sabe que su distribución es mundial y están presentes en todos los continentes, se han descrito principalmente en Enterobacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomona aeruginosa*, y *Shiegella spp.* (14)

La primera Betalactamasa AmpC detectada en Estados Unidos fue de *K. pneumoniae* en el año de 1994, desde entonces se observó una expansión territorial en hospitales de todo el país. Así mismo se detectó un aumento del 1,1% al 2,6% en la misma institución sanitaria en un periodo de cinco años. Un estudio realizado entre los años

1992 y 2000 en 70 hospitales norteamericanos reveló que de 752 cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* resistentes a oximinocefalosporinas, el 7,5% de *K. pneumoniae* y el 4% de *E. coli* producían AmpC plasmídica. En el 2005 la prevalencia de AmpC plasmídica en *E. coli* y *K. pneumoniae* fue de 0,6% y 0,5% respectivamente. (14)

En Canadá la prevalencia de AmpC ha aumentado desde 1999. Un estudio realizado en el 2005 reveló que el 11% de *E. coli* resistente a cefoxitina producía AmpC plasmídica, años más tarde se observó que *E. coli* resistente a cefoxitina alcanzaba ya el 30,5% detectándose principalmente en muestras urinarias procedentes de la comunidad. En otro estudio realizado en unidades de cuidados intensivos de hospitales de todo el país mostró como el principal mecanismo de resistencia a cefoxitina en *E. coli* la adquisición de AmpC plasmídica. El análisis de agua mostró un 77,5% de AmpC en *E. coli* resistentes a cefoxitina, y un estudio realizado entre los años 2007 y 2009 evidenció un aumento de *E. coli* productora de AmpC plasmídica del 0,8% al 2,7%. (14)

En Taiwán un estudio llevado a cabo en el año 2003 reveló que el 43,6% de *E. coli* y el 14,5% de *K. pneumoniae* con sensibilidad disminuida a las cefalosporinas de tercera generación eran productoras de AmpC plasmídica. En Corea del Sur se encontró que el 2,9% de *K. pneumoniae*, el 2,5% de *K. oxytoca* y el 0,8% de *P. mirabilis* producían AmpC plasmídica. En China en cinco hospitales infantiles se observó una prevalencia de AmpC plasmídica del 2,6% en infecciones producidas por *E. coli* y *K. pneumoniae*. (14)

Por otro lado, en Europa un estudio llevado a cabo por el Sistema de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos Europea (EARSS), mostró que, en tres centros hospitalarios del Reino Unido en el 2004, tras un screening inicial de aislados resistentes a cefoxitina el 49% de *E. coli* y el 55% de *K. pneumoniae* eran productores de AmpC plasmídica. En Irlanda en el año 2006 se observó que el 48% de *K. pneumoniae* resistentes a cefalosporinas de tercera generación producían AmpC plasmídica. En Francia entre los años 2004 y 2008 se encontró que el 0,09% de *E. coli* y el 6% resistentes a cefoxitina eran productores de AmpC plasmídica. En España varios estudios reflejan un aumento de la prevalencia de AmpC plasmídica, en *E. coli* pasó del 0,04% en 1999 a un 1,2% en 2007, en *K. pneumoniae* pasó del 0,4% en el

2000 a un 1,52% en el 2007 y un aumento en cepas de *Salmonella spp* productores de AmpC plasmídica en los años del 2001 al 2005. (14)

En nuestro país en la ciudad de Loja un estudio realizado por Abigail Torres en el 2014 en el Hospital Manuel Ygnacio Monteros realizó un estudio sobre la resistencia bacteriana producida por *Escherichia coli* en urocultivos donde identifico que el 19,2% corresponde a Betalactamasas de espectro extendido, 3,8% a Betalactamasas tipo AmpC, 1,3% a carbapemenasas y el 75,6% a otros mecanismos. (15)

Como se puede apreciar la prevalencia de Enterobacterias productores de AmpC plasmídicas varía considerablemente de una zona geográfica a otra, de la especie estudiada y del periodo de tiempo.

1.2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Existe relación entre la resistencia antimicrobiana y las Betalactamasas de espectro extendido tipo AmpC producidas por *Escherichia coli*?

1.3 JUSTIFICACIÓN

La resistencia antimicrobiana representa un problema de salud pública en crecimiento debido a que cada día las bacterias son más resistentes y los antibióticos menos eficaces en su lucha contra las infecciones, teniendo como principales consecuencias el fracaso de la terapia antimicrobiana, aumento de morbilidad y mortalidad además de los costos elevados de atención médica por parte del estado como del paciente.

Las bacterias Gram negativas constituyen el principal grupo de bacterias multirresistentes a nivel mundial debido a que tienen la propiedad de producir enzimas denominadas Betalactamasas las que confieren resistencia a un gran número de antibióticos Betalactámicos.

La presente investigación se enfocó en determinar Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasas tipo AmpC y así poder brindar un tratamiento adecuado a los pacientes con infecciones de las vías urinarias debido a que constituyen uno de los principales motivos de consulta en atención primaria en salud.

La producción de las Betalactamasas tipo AmpC pueden dar lugar a fracasos terapéuticos en el tratamiento con antibióticos Betalactámicos por tal razón es importante su detección en el laboratorio.

Existe una escasa o nula información sobre las Betalactamasas tipo AmpC en esta región y en el Ecuador, esto se debe a la falta de estudios multicéntricos y a la ausencia de técnicas de detección estandarizadas de estas enzimas, debido a que la detección de Betalactamasas tipo AmpC es importante clínica y epidemiológicamente se llevó a cabo dicha investigación.

Al no haber investigaciones sobre este tema y a que no se conoce la epidemiología de las Betalactamasas AmpC en la ciudad de Latacunga se realizó este tipo de investigación ya que la emisión de un reporte con una adecuada interpretación de los resultados de sensibilidad y de detección de Betalactamasas AmpC es fundamental para la elección de un antimicrobiano que garantice la eficacia terapéutica.

La presente investigación fue factible realizarla porque contó con la colaboración de las autoridades del Hospital Provincial General de Latacunga, recursos humanos, la posibilidad de adquirir los materiales y reactivos y también se dispuso del material bibliográfico e instrumentos necesarios para llevar a cabo dicho estudio.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar Betalactamasas de Espectro Extendido tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli* y su relación con la resistencia antimicrobiana.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Emplear el método de disco difusión Kirby Bauer para identificar cepas de *Escherichia coli* productoras de enzimas Betalactamasas de Espectro Extendido.
- Detectar cepas de *Escherichia coli* que expresan fenotípicamente Betalactamasas tipo AmpC por el método de aproximación de discos y el método de sinergia de doble disco.
- Determinar la resistencia a los antimicrobianos producida por *Escherichia coli*.
- Relacionar la presencia de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasas tipo AmpC con la resistencia a los antimicrobianos producida por *Escherichia coli*.

CAPITULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 ESTADO DEL ARTE

B. Sasirekha y Srividya Shivakumar del Departamento de Microbiología de la Universidad de Jain en la ciudad de Bangalore (India), en el año 2011 en su artículo científico:

“Ocurrencia de Betalactamasas de AmpC mediada por plásmidos entre aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en un Hospital Terciario de Bangalore” cuyo objetivo fue determinar la prevalencia del plásmido mediada por Betalactamasa tipo AmpC en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en un hospital terciario de Bangalore. (16)

Se analizaron un total de 63 y 27 cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* respectivamente en un Hospital de Bangalore de febrero de 2008 a julio de 2008 en el cual se detectaron aislamientos reducidos a cefoxitina y los cuales fueron sometidos a una prueba de confirmación con el método Test Tridimensional. (16)

Los estudios y pruebas de susceptibilidad revelaron la resistencia a cefoxitina en el 57.7% de los aislamientos y la presencia de AmpC fue de un 7,7%. Las Betalactamasas tipo AmpC mediadas por plásmido se encontraban en 11.1% de *Klebsiella pneumoniae* y 6.3% de *Escherichia coli*. (16)

La conclusión a la que se llegó fue que la aparición de los plásmidos de AmpC en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* tiene gran importancia en el seguimiento de los hospitales y hace un llamado de atención en la necesidad de una vigilancia epidemiológica. (16)

Alireza Japoni Nejad del Departamento de Mycobacteriología del Instituto Pasteur de Irán, en el año 2014, en su artículo científico:

“Caracterización de AmpC mediada por plásmidos y carbapemenasas entre aislados nosocomiales de *Klebsiella pneumoniae* utilizando métodos de fenotipado y genotipificación” cuyo objetivo fue evaluar la ocurrencia de Betalactamasas tipo AmpC mediadas por plásmidos y carbapemenasas en aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* y comparar el rendimiento de prueba de varios métodos fenotípicos para la detección de estas enzimas en Irán. (17)

Se obtuvieron 100 aislados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* en el Hospital Valiasr, donde se utilizó la prueba de disco de AmpC, la prueba de Hodge y la prueba de disco combinado con ácido borónico. (17)

Se usó la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) como patrón de oro para comparar los resultados de los diversos métodos fenotípicos utilizados, además la producción de carbapemenasas se determinó usando la prueba de Hodge modificada, la prueba de sinergia de los discos de EDTA y la prueba de disco combinado de ácido borónico. (17)

Como conclusión se determinó que la combinación de cefoxitina mas ácido borónico es un método óptimo para detectar fenotípicamente enzimas AmpC mediada por plásmidos en *Klebsiella pneumoniae*, mientras que los métodos moleculares son costosos, complejos y requiere de personal altamente calificado. (17)

Varsha Gupta Karthikeyan del Departamento de Microbiología de la Universidad de Madras en Chennai, India, en el año 2010 en su artículo científico:

“Betalactamasas AmpC en los aislados nosocomiales de *Klebsiella pneumoniae* de la India” cuyo objetivo fue estudiar tanto Betalactamasas de Espectro Extendido como Betalactamasas AmpC en cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae*. (18)

Para este estudio se obtuvieron 100 cepas de *Klebsiella pneumoniae* en el periodo de un año (Junio de 2008 – Junio de 2009). Se utilizó el método de susceptibilidad antimicrobiana con diez antibióticos para la determinación de Betalactamasas de

Espectro Extendido y la detección de Betalactamasas tipo AmpC se realizó con discos de cefoxitina y pruebas de confirmación. (18)

Se utilizó la prueba de disco AmpC y la prueba tridimensional modificada en todos los aislamientos resistentes a cefoxitina, mientras que la PCR multiplex se utilizó para la detección de la presencia de plásmido mediada por AmpC. (18)

Los resultados mostraron 48 casos resistentes para cefoxitina de los 100 aislamientos que se obtuvieron para *Klebsiella pneumoniae*, donde la prueba de disco AmpC mostro positiva en un 32 (32%) de los aislamientos lo que fue corroborado con la prueba tridimensional modificada. (18)

Como conclusión la combinación de discos cefepime-tazobactam sería un método simple en la detección de Betalactamasas de amplio espectro en Enterobacterias y Betalactamasas AmpC en los laboratorios de microbiología para el diagnóstico clínico de rutina. (18)

Mohamudha Parveen R y Harish B.N del Departamento de Microbiología del Instituto de Postgrado Medico e Investigación de Pondicherry, India, en el año 2010 en su artículo científico:

“Betalactamasas AmpC de aislamientos clínicos Gram negativos de un Hospital Terciario al sur de la India” cuyo objetivo fue estudiar determinar la ocurrencia de Betalactamasas AmpC de aislamientos clínicos Gram negativos en el estado de Pondicherry. (19)

Para este estudio se obtuvieron un total de 235 aislados clínicos Gram negativos, los cuales fueron sometidos a diversos antibióticos para determinar su resistencia por el método de disco difusión y fueron seleccionados todos aquellos que presentaron resistencia a las cefalosporinas de tercera generación y al cefotaxina y fueron sometidos al método Test Tridimensional y el método de prueba para disco de AmpC. (19)

Los resultados mostraron que el 80,9% de los aislamientos fueron detectados por el método de prueba para disco de AmpC y el 93,6% fueron detectados por el método Test Tridimensional. (19)

Como conclusión se llegó a que el método Test Tridimensional detecta mejor las Betalactamasas AmpC, pero el método de prueba para disco de AmpC es más fácil de usar. (19)

NO Yilmaz, N Agust, E Bozcal, O Oner y A Uzel, del Departamento de Laboratorio de Microbiología del Hospital Tepecik de Educación e Investigación de la Universidad de Ege, en Izmir (Turquía), en su artículo científico:

“Detección de Betalactamasas AmpC mediado por plásmidos en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*”, cuyo objetivo fue investigar la prevalencia de Betalactamasas AmpC plasmídica y comparar la prueba de disco con ácido borónico con otras pruebas que fenotípicamente detectaron aislados positivos para AmpC. (20)

Para este estudio se analizaron un total de 273 aislamiento de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, mediante pruebas de disco de ácido borónico, disco de cefoxitina, el método Test Tridimensional y PCR (Reacción en cadena polimerasa). (20)

Los resultados arrojaron que de las 273 cepas, 127 cepas fueron resistentes para cefoxitina, 114 fueron positivas por el método de Test Tridimensional, 108 fueron positivos para la prueba de disco de ácido borónico y 24 cepas fueron positivas para Betalactamasas AmpC plasmídica a través del PCR. (20)

Como conclusión se llegó a que los laboratorios clínicos deben considerar la detección de Betalactamasas AmpC en todas las cepas resistentes a cefoxitina a través de estos métodos fenotípicos. (20)

S. Peter Getzlaff, S. Polsfuss y M. Poledica del Instituto de Microbiología Medica de la Universidad de Zúrich (Suiza), en el año 2011 en su artículo científico:

“Detección de Betalactamasas AmpC en *Escherichia coli*: comparación de tres ensayos de confirmación fenotípica y análisis genético”, cuyo objetivo fue comparar tres ensayos de detección fenotípica y análisis genético. (21)

Se analizaron 51 cepas de *Escherichia coli* con susceptibilidad reducida a diversos antibióticos como Amoxicilina/Ac. Clavulánico, Piperaciclina/tazobactam y

cefalosporinas de espectro extendido y detectarlos con tres métodos fenotípicos como: el método de discos cefoxitin-cloxacilina y el método de difusión en disco cefoxitina-EDTA y para identificar sus genes se utilizó la técnica de PCR. (21)

Los resultados mostraron que los tres métodos fenotípicos fueron positivos en el 90% de los casos, de las 51 cepas de *Escherichia coli*, 21 (41%) fueron productores de AmpC, y de las 21, 8 cepas poseían genes mediados por plásmidos. También se detectó que 20 de las 21 cepas fueron resistentes al cefoxitina y a las cefalosporinas de tercera generación. (21)

La conclusión a la que se llegó fue que los tres métodos fenotípicos son herramientas aceptables para la detección de Betalactamasas AmpC. (21)

Xiangqun Liu y Yongrui Liu, en el año 2016 en su artículo científico:

“Detección de Betalactamasas AmpC mediado por plásmidos en *Escherichia coli*”, cuyo objetivo fue examinar el fenotipo, genotipo y la epidemiología de las Betalactamasas AmpC mediada por plásmidos en *Escherichia coli* en un Hospital de la ciudad de Xuzhou entre agosto y octubre del 2012. (22)

Para el estudio se utilizaron equipos automatizados de microbiología microscan, el método de PCR (reacción en cadena polimerasa) y discos de cefoxitina, las cepas se cultivaron usando en método Kirby Bauer y todas aquellas cepas que fueron resistentes para cefoxitina se consideraron como posibles productoras de Betalactamas AmpC y se usó la reacción en cadena polimerasa para identificar los plásmidos. (22)

En total se estudiaron 96 cepas de *Escherichia coli*, de las cuales 43 fueron resistentes a cefoxitina y se detectaron 12 cepas productoras de Betalactamas AmpC por medio del PCR multiplex. (22)

Como conclusión de este estudio se demostró la detección de las Betalactamas AmpC producida por *Escherichia coli* fue alta en el Hospital de la ciudad de Xuzhou y se recomendó antibióticos carbapenémicos para tratar infecciones de este tipo. (22)

2.2 FUNDAMENTO TEÓRICO

2.2.1 ENTEROBACTERIACEAE

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo heterógamo y numeroso de bacilos Gram negativos con más de 50 géneros, cientos de especies y subespecies, sin embargo, las Enterobacterias de importancia clínica comprenden de 20 a 25 especies, generalmente son patógenos oportunistas se localizan y forman parte de la flora intestinal del hombre y de muchos animales, estos géneros se clasifican según su ADN, ARN, virulencia y propiedades bioquímicas. Son los responsables de producir una gran cantidad de enfermedades en el ser humano como bacteriemias. Infecciones del tracto urinario y muchas infecciones gastrointestinales. (23) (24) (25)

2.2.1.1 Características generales

Son bacilos Gram negativos, con un tamaño entre 0.3 x 1.0 a 1.0 x 6.0 um, pueden ser inmóviles o móviles, poseen flagelos peritricos, no forman esporas, son anaerobios o aerobios facultativos, fermentadores de glucosa, catalasa positivos, oxidasa negativos, reducen los nitratos a nitritos, son capaces de producir diversas toxinas, poseen una estructura antigénica, se encuentran distribuidos universalmente en el suelo, agua, la vegetación y forman parte de la flora normal del hombre y animales. (23) (26) (24) (25)

2.2.1.2 Pared celular

- **Membrana externa**

La membrana externa es una estructura que actúa como la principal barrera de permeabilidad de la célula, condiciona las propiedades de superficie de la bacteria como la humedad, adhesividad y la carga eléctrica. (27) (28)

- **Porinas**

Las porinas o canales proteicas son poros de la membrana externa que permiten el transporte de sustancias, la difusión pasiva de sustancias de bajo peso molecular y así como la expulsión de antibióticos. (29) (28)

- **Lipopolisacáridos**

El lipopolisacárido es un componente de la membrana externa que tiene una actividad endotóxica que se asocia al componente lipídico A, es la responsable de causar la enfermedad y la gravedad depende de la cantidad de endotoxina liberada por la bacteria. (30) (28)

- **Lipoproteínas**

Las lipoproteínas son macromoléculas compuestas por lípidos y proteínas, cuya función es adherir la membrana externa a la capa de mureína. Esta capa de mureína está compuesta de N-acetil Glucosamina y N-acetil Murámico. Se la conoce también como capa de peptidoglicano y es el principal constituyente de la pared celular, además de ser una estructura importante de la bacteria. (30)

- **Espacio periplásmico**

El espacio periplásmico es una abertura mucosa que se encuentra entre la membrana externa y la membrana citoplasmática, contiene proteínas de enlace, sustratos hidrolíticos y quimiorreceptores las cuales tienen importancia para el metabolismo y nutrición celular. (30) (28)

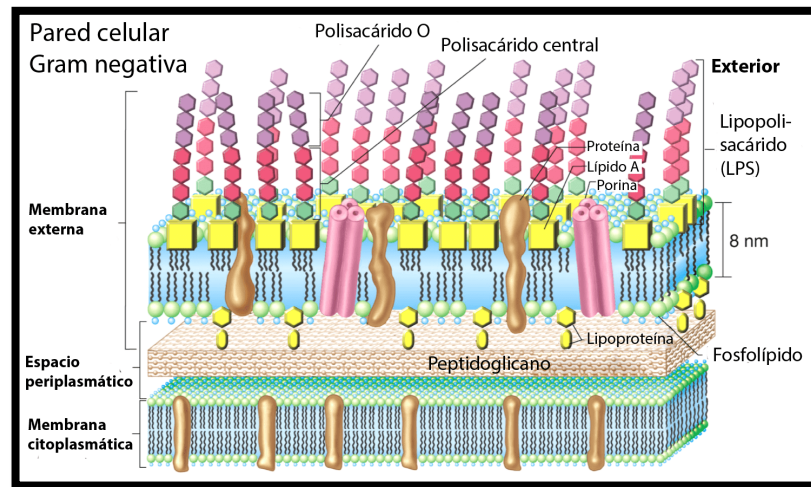
2.2.1.3 Membrana citoplasmática

La membrana citoplasmática es una envoltura que rodea la célula, actúa como un medio de permeabilidad para las sustancias que ingresan y salen de la célula, pero también actúa como una barrera selectiva para impedir el intercambio de sustancias. Básicamente está compuesta de fosfolípidos, glucolípidos y proteínas que ayudan a mantener el equilibrio y metabolismo celular. (27) (28)

2.2.1.4 Citoplasma y otros componentes internos

El citoplasma es una estructura que alberga cromosomas, ribosomas, orgánulos y plásmido (no en todas las bacterias). (27) (28)

Ilustración N° 1. Estructura da la pared celular Gram negativa.



Fuente: (31)

2.2.1.5 Patogenia e inmunidad

- **Endotoxina**

Las endotoxinas son componentes que se encuentran en la membrana exterior de las bacterias Gram negativas aerobias y algunas anaerobias. Estas endotoxinas están formadas por lipopolisacáridos (LPS), se trata de una molécula compuesta por azúcares y lípidos. (32) (33) (34)

Las endotoxinas constituyen un elemento indispensable para la supervivencia celular y además es un componente principal de su pared, la acción de esta toxina depende del elemento lípido A del lipopolisacárido, que se libera durante la lisis celular. (35) (33)

Las endotoxinas al ser liberadas en un organismo producen una variedad de efectos fisiológicos como: linfocitopenia, leucocitosis, trombocitopenia, activación de la coagulación, del sistema de complemento, necrosis, shock y la muerte. (36) (33)

- **Cápsula**

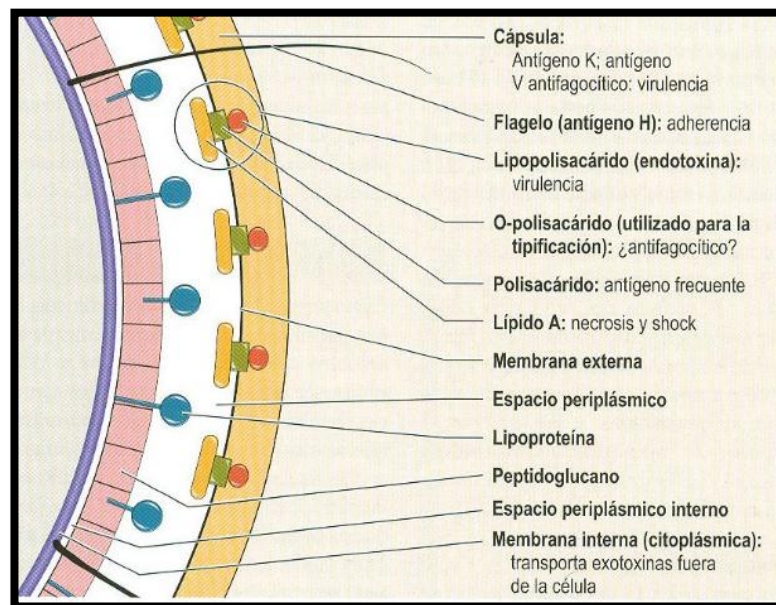
La capsula constituye un factor de virulencia, es una cubierta compuesta de polisacáridos y/o polipéptidos, protege a la bacteria de la desecación y fagocitosis, principal mecanismo de defensa del huésped ante la presencia de

bacterias capsuladas, entre sus funciones le sirve a la bacteria de permeabilidad y le permite adherirse a las superficies. (37) (38)

- **Variación de fase antigénica**

Los antígenos son características que protegen a las bacterias, el antígeno O somático constituye la parte externa del polisacárido de la pared celular, es altamente antigénico y le permite la identificación del serotipo. El antígeno H flagelar está presente en la mayoría de la Enterobacterias, se encuentran ubicados en los flagelos y pueden ser eliminados por medio del calor o alcohol, ayuda a la bacteria a protegerse de la destrucción mediada por anticuerpos y al igual que el antígeno somático O permite la identificación del serotipo. El antígeno K o capsular está presente solo en algunas bacterias capsuladas y el antígeno F o fimbrial se encuentra en las fibrinas y generalmente son de naturaleza proteica, actúan en la adherencia de muchas bacterias jugando un papel importante en la colonización. (39) (40)

Ilustración N° 2. Factores de virulencia de Gram negativos.



Fuente: (41)

2.2.1.6 *Escherichia coli*

- **Historia**

Escherichia coli fue descubierta en el año de 1885 por el microbiólogo y profesor Austro alemán Theodore Von Escherich quien en un principio la denominó *Bacterium coli commune* que puede traducirse como “bacteria común del colon”. En el año de 1919 Castellani y Chalmers la bautizaron como *Escherichia coli* en honor a su descubridor. (42) (43) (44)

- **Definición**

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo que normalmente habita la microbiota normal del hombre y animales, se presenta como un comensal del intestino humano pocas horas después del nacimiento. Sin embargo existen algunos tipos de *Escherichia coli* que son patógenos y pueden causar gastroenteritis, infecciones del tracto urinario, cistitis, pielonefritis, neumonía, intoxicación alimentaria y otras más. (40) (45) (46)

- **Características**

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo no esporulante, catalasa positiva, oxidasa negativa, fermentadora de glucosa y lactosa con producción de gas, reduce el nitrato a nitrito, producen el indol a partir del triptófano siendo negativa la reacción de Voges Proskauer, anaerobio facultativo y móvil por flagelos.

Su estructura antigénica está compuesta por:

- ✓ Antígeno capsular (antígeno “K”)
- ✓ Antígeno somático (antígeno “O”)
- ✓ Antígeno flagelar (antígeno “H”)
- ✓ Antígenos menores como proteínas y fimbrias. (42)

2.2.2 ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS

Los antibióticos Betalactámicos constituyen la familia más numerosa de los antimicrobianos que se caracterizan por poseer en su estructura un anillo betalactámico, con acción bactericida de amplio uso en la clínica, su uso adecuado ayuda en el control de las enfermedades infecciosas, reduce la prolongación del tiempo de hospitalización y disminuye económicamente los costos en los tratamientos. (47)

Los antibióticos Betalactámicos poseen un amplio margen terapéutico, pueden ser de origen animal o semisintético siendo eficaces en infecciones producidas por bacterias Gram positivas y Gram negativas puesto que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, pero no son activas contra aquellas bacterias que carecen de pared celular como *Mycoplasmas* ni tampoco contra *Rickettias* y *Chlamydias*. (48) (49)

2.2.2.1 Clasificación de los antibióticos betalactámicos

2.2.2.2 Penicilinas

Las Penicilinas son antibióticos de amplio espectro que se usan para tratar una gran cantidad bacterias y enfermedades infecciosas, debido a las resistencias cada vez son menos eficaces en su lucha contra las infecciones, existen varios tipos de penicilinas según su uso. Se pueden dividir según su actividad antibacteriana en las siguientes clases. (50)

- **Penicilinas naturales**

Dentro de este grupo se encuentra la penicilina G descubierta por Alexandre Fleming en 1928, se administra vía intravenosa para el tratamiento de las infecciones graves como septicemias, gangrenas, enfermedad de Lyme y sífilis producidas por bacterias como *Streptococcus pyogenes*, *Clostridium perfringes* y *Treponema pallidum*. (51)

- **Penicilinas semisintéticas**

Dentro de este grupo se incluye la ampicilina y la amoxicilina desarrollada en 1960 y 1972 respectivamente. Se emplean para bacterias Gram positivas y Gram negativas y también para combatir el meningococo, la *Lysteria spp* y el *Streptococcus faecalis*. (51)

2.2.2.3 Cefalosporinas

Las cefalosporinas son sustancias producidas por el hongo *Cephalosporium acremonium*, constituyen el segundo grupo de Betalactámicos descritos, al igual que los demás antibióticos bloquean la síntesis de la pared celular de la bacteria a través de la inactivación de las proteínas que ligan la penicilina (PBP). (52)

Tabla N° 1. Clasificación de las cefalosporinas por generaciones.

Generaciones	Ejemplos	Espectro de actividad antibacteriano
Primera Generación	Cefalotina Cefazolina Cefalexina Cefradina Cefadroxilo	Buena actividad contra Gram (+). Actividad moderada contra Gram (-) incluyendo <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneummoniae</i> y <i>Proteus mirabilis</i> .
Segunda Generación	Cefamandol Cefaclor Cefuroxima Cefonicid Cefoxitina Cefotetan Cefprozil	Menor actividad contra <i>Staphylococcus</i> . Mayor actividad contra <i>Haemophilus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneummoniae</i> . Cefoxitin inhibe muchas Enterobacterias productoras de betalactamasas, pero no especies de <i>Enterobacter</i> o <i>Citrobacter</i> Buena actividad contra Gram (-).
Tercera Generación	Cefotaxima Ceftizoxima Ceftriaxona Moxalactam Cefixima Ceftazidima Cefoperazona Cefpodoxima	Menor actividad contra <i>Staphylococcus</i> . Mayor actividad contra <i>Neisseria</i> . Mayor actividad contra Enterobacterias incluyendo <i>Citrobacter</i> , <i>Serratia</i> y <i>Providencia</i> . Reduce su actividad contra Gram (+). Ceftriaxona y cefotaxima son las cefalosporinas más activas contra cepas de <i>Streptococcus pneumoniae</i> resistente a penicilinas.
Cuarta Generación	Cefepime Cefpiroma	Mayor potencia contra Gram (-). Mayor actividad contra Gram (+). Mejoran su actividad contra las resistencias bacterianas.

Fuente: (53)

2.2.2.4 Monobactámicos

Los monobactámicos son antibióticos monocíclicos donde Aztreonam es el principal representante con una actividad dominante y exclusiva frente a bacterias Gram negativas, aerobios resistentes a las penicilinas y cefalosporinas incluidas, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Haemophilus influenzae* se emplean en IVU, infecciones gonocócicas, meningitis, infecciones bronquiales y pacientes con fibrosis quísticas. (54) (51)

2.2.2.5 Carbapenémicos

Los carbapenémicos constituyen los antibióticos de más amplio espectro y resistencia frente a las Betalactamasas de Espectro Extendido. Dentro de los principales carbapenémicos tenemos al imipenem, meropenem y ertapenem, presentan excelente actividad frente a bacterias Gram negativas y Gram positivas. (51)

Se utiliza en infecciones graves e infecciones causadas por bacilos Gram negativos como *Pseudomona aeruginosa* resistentes a cefalosporinas y amonoglucósidos, incluido *Acinobacter baumannii* resistente a carbapenemes y en pacientes con endocarditis por *Enterococcus faecalis*. Estas circunstancias hacen que los carbapenémicos sean indispensables en el tratamiento frente a bacterias multirresistentes y/o productoras de Betalactamasas de espectro extendido. (55)

2.2.3 INHIBIDORES DE BETALACTÁMICOS

2.2.3.1 Amoxicilina/Ácido Clavulánico

Amoxicilina/Ácido Clavulánico es una combinación entre una penicilina semisintética y de una molécula inhibidora de Betalactamasas, está indicado en cepas productoras de Betalactamasas, así como de infecciones agudas y crónicas de las vías respiratorias, gastrointestinales, genitourinarias y de tejidos blandos. (56)

2.2.3.2 Amoxicilina/Sulbactam

Amoxicilina/Sulbactam es una combinación entre un antibiótico bactericida con un inhibidor de las Betalactamasas, está indicado en cepas productoras de Betalactamasas, producidas por bacterias Gram negativas y también contra bacterias Gram positivas, así como de infecciones del tracto respiratorio superior e inferior, otitis media, sinusitis e infecciones del tracto urinario, bacteriemias, tejidos blandos entre otras. (57)

2.2.3.3 Piperacilina/Tazobactam

Piperacilina/Tazobactam es una combinación entre un antibiótico betalactámico (inhibe la síntesis de la pared bacteriana) y un inhibidor de las Betalactamasas para el tratamiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas productoras de Betalactamasas. Es ampliamente usado en infecciones del aparato urinario, infecciones de tejidos y piel, bacteriemias y neumonías. (58)

2.2.4 BETALACTAMASAS

Las Betalactamasas son enzimas producidas por las bacterias y son las responsables de la resistencia bacteriana a los antibióticos Betalactámicos, actualmente se han descrito más de 200 Betalactamasas pero la clasificación más utilizada es la de Ambler y la de Bush-Jacoby-Medeiros en 1995, dividida en cuatro grupos y varios subgrupos basándose en las diferentes características funcionales como como propiedades bioquímicas, codificación, sustratos de las enzimas y en la inhibición de su actividad por el ácido clavulánico, EDTA y aztreonam. (59)

Tabla N° 2. Clasificación de las Betalactamasas propuesta por Bush, Jacoby-Medeiros.

Grupo Bush-Jacoby (2009)	Clase molecular (subclase)	Sustratos preferidos	Inhibidos por:		Principales Características	Enzimas representativas
			AC ¹	EDTA		
1	C	Cefalosporinas	No	No	Mejor hidrólisis de cefalosporinas que de benzilpenicilina	AmpC, P99, ACT-1, CYM-2, FOX-1, MIR-1.
1e	C	Cefalosporinas	No	No	Hidrólisis incrementada hacia cefatazidima y otros oximino-beta-lactámicos	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilinas	Si	No	Mejor hidrólisis de benzilpenicilina que de cefalosporinas	PC1
2b	A	Penicilinas, cefalosporinas	Si	No	Hidrólisis similar de benzilpenicilinas y de cefalosporinas	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	Si	No	Hidrólisis incrementada hacia cefatazidima y otros oximino-beta-lactámicos (cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefepime)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicilinas	No	No	Resistencia a ácido clavulánico, sulfabactam y tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos	No	No	Hidrólisis incrementada hacia oximino-beta-lactámicos combinados con resistencia a AC, sulfabactam y tazobactam	TEM-50
2c	A	Carbenicilinas	Si	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbenicilinas, cefepime	Si	No	Hidrólisis incrementada de la carbenicilina, cefepime y cefiprome	RTG-4
2d	D	Cloxacilina	Variable	No	Hidrólisis incrementada de la cloxacilina o de la oxacilina	OXA-1, OXA-10
2de	D	Cefalosporinas de espectro extendido	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y oximino-beta-lactámicos	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenems	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina o oxacilina y carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro extendido	Si	No	Hidrólisis de cefalosporinas. Inhibido por ácido clavulánico pero no por aztreonam	CepA
2f	A	Carbapenems	Variable	No	Hidrólisis incrementada de carbapenems, oximino-beta-lactámicos, cefamicinas	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B (B1)	Carbapenems	No	Si	Hidrólisis de espectro extendido incluyendo carbapenems pero no monobactams	IMP-1, VIM-1, CrA, IND-1
	B (B3)					L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	B (B2)	Carbapenems	No	Si	Hidrólisis preferente de carbapenems	CphA, Sfh-1

Fuente: (60)

2.2.5 BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)

En 1980 en un hospital de Alemania *Klebsiella pneumoniae* fue la primera bacteria descubierta en producir BLEE en una infección nosocomial y en 1990 se lo considero como el principal productor de BLEE nosocomiales. Por otra parte los brotes de BLEE a causa de *Escherichia coli* aumentaron de manera súbita a partir del siglo XXI. (61)

Las BLEE son enzimas producidas por las bacterias Gram negativas como un modo de defensa para suprimir el efecto del antibiótico betalactámico y así generar la resistencia bacteriana, estas enzimas actúan rompiendo el anillo betalactámico antes que el antibiótico llegue al punto de unión de las PBP reprimiendo de esta forma la función del antibiótico y permitiendo a la bacteria con su desarrollo aun en presencia del antibiótico. (61)

Las BLEE son producidas principalmente por bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter spp*, *Proteus spp*, *Serratia spp* y *Enterobacter spp*, pero también pueden ser producidas por bacterias no fermentadoras como *Pseudomona aeruginosa* y *Acinobacter baumannii*. (61) (62) (63)

Las infecciones nosocomiales y adquiridas en la comunidad se deben a las Enterobacterias productoras de BLEE que emergen primordialmente de mutaciones por los genes SHV, TEM y CTX-M, encontrándose más de 300 variables. Las BLEE puede llegar a ser cromosómicas o plasmidicas. Las Betalactamasas cromosómicas son naturales en una determinada bacteria mientras que las Betalactamasas plásmidicas son variables y transferibles entre las distintas especies de bacterias. *Klebsiella pneumoniae* portael gen SHV-1 en su cromosoma, mientras que *Escherichia coli* posee un plasmido portador del gen TEM-1. En la actualidad se conocen más de 60 variantes productoras de TEM, la mayoría generadoras de BLEE y más de veinte SHV. (61) (62)

Las BLEE constituyen un gran problema terapéutico en todo el mundo porque son capaces de conferir resistencia a una gran variedad de antibióticos como las penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos pero no a los carbapenemes ni a las cefamicinas y son inhibidas por el ácido clavulánico. (61) (62)

2.2.5.1 Betalactamasas tipo TEM (Clase A)

La Betalactamasa tipo TEM-1 es la que más comúnmente se halla en bacterias Gram negativas, en *Escherichia coli* cerca del 90% de resistencia a ampicilina corresponde a la elaboración de una TEM-1, y en otras bacterias como *Vibrio spp.*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria gonorrhoeae* se ha descrito que este tipo de Betalactamasa es la responsable de resistencia a penicilinas en aumento, se han descrito más de 140 tipos de TEM siendo encontradas con más frecuencia en los Estados Unidos. (64)

Las betalactamasas de tipo TEM también se han encontrado en otras especies de bacterias como *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *M. morgani*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri*, *Salmonella spp.* y *P. aeruginosa*. (64)

2.2.5.2 Betalactamasas tipo SHV (Clase A)

Las Betalactamasas del tipo SHV tiene más prevalencia en Estados Unidos y Europa con cerca de 60 variantes de SHV, habitualmente se encuentra más en *Klebsiella pneumoniae* con un 20% de resistencia a ampicilina, pero también se han encontrado en *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. (65)

2.2.5.3 Betalactamasas tipo CTX-M (Clase A)

Las Betalactamasas del tipo CTX-M se han encontrado más en Sudamérica y Europa del Este con cerca de 80 tipos, en los que *Salmonella enterica serovar typhimurium* y *Escherichia coli* son las bacterias en las que más se encuentra, este tipo de Betalactamasas tiene afinidad por la resistencia a los antibióticos como la cefotaxima, cefuroxima y cefepime. (66)

2.2.5.4 Betalactamasas tipo OXA (Clase D)

Las Betalactamasas del tipo OXA se encuentran más en países como Francia y Turquía, donde la principal bacteria encontrada es *Pseudomonas aeruginosa*, estas betalactamasas tienen la capacidad de hidrolizar la oxacilina y cloxacilina y tiene resistencia a la ampicilina y cefalotina. (67)

2.2.6 BETALACTAMASAS TIPO AmpC

Las Betalactamasas tipo AmpC son serinbetalactamasas, también se las conoce con el nombre de cefalosporinas, actualmente pertenecen a la clase C o al grupo 1 de la clasificación propuesta por Bush, Jacoby y Medeiros en 1995. (19) (22) (68)

En la mayoría del género de la familia *Enterobacteriaceae* las Betalactamasas tipo AmpC son clínicamente significativas ya que se caracterizan por conferir resistencia a una gran variedad de antibióticos betalactámicos como las penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación incluyendo cefamicinas y en menor medida las de tercera generación, pero no son capaces de conferir resistencia a las cefalosporinas de cuarta generación ni a los carbapenémicos. (19) (22) (68)

El Aztreonam, la cloxacilina y el ácido borónico tienen la propiedad de inhibir las Betalactamasas tipo AmpC pero no son afectadas por los inhibidores de las Betalactamasas como por el clavulanato, sulbactam y tazobactam. (69) (19)

Las Betalactamasas tipo AmpC pueden ser cromosómicas (cAmpC) o plasmídicas (pAmpC). (18) (19) (22)

Las Betalactamasas tipo AmpC mediadas por cromosomas se han descrito en una gran variedad de la familia *Enterobacteriaceae*, que las expresan de manera natural como en el caso de *Enterobacter spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella morganii.*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Acinobacter baumannii*, *Shigella spp* y organismos no fermentadores como *Pseudomona aeruginosa*. (18) (19) (22) (68)

Mientras que las Betalactamasas tipo AmpC mediadas por plásmidos las expresan bacterias como: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* y *Salmonella spp*. Estas tienen aún mucho más importancia clínica y epidemiológica. (69) (18) (19)

En el caso de *Escherichia coli* posee Betalactamasas tipo AmpC tanto plasmídicas como cromosómicas (en este caso cuando posee un alto nivel de producción de estas enzimas). (18) (22)

Las opciones durante el tratamiento de infecciones causadas por Enterobacterias que expresan Betalactamasas tipo AmpC son limitadas, en especial las plasmídicas porque pueden dar lugar a fracasos terapéuticos en el tratamiento con betalactámicos y se

asocian a una gran resistencia a múltiples fármacos, además las Betalactamasas AmpC plásmidicas pueden transferirse o diseminarse en el ambiente nosocomial como en la comunidad. (18) (19) (22) (68)

2.2.7 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno que ocurre cuando los microorganismos como virus, bacterias, hongos y parásitos sufren cambios o modificaciones genéticas y hacen que los medicamentos se vuelvan ineficaces o dejen de funcionar a lo que antes eran vulnerables a una infección. (70) (71)

Como consecuencia los microorganismos se vuelven resistentes a los medicamentos y los antibióticos se vuelven inútiles, las infecciones persisten en el organismo, aumenta el tiempo de hospitalización, hay una alta probabilidad de muerte y ocasionan grandes costos económicos tanto al paciente como a los servicios sanitarios. (72) (71)

2.2.7.1 Tipos de resistencias

- **Natural o intrínseca**

Se conoce como resistencia intrínseca a la heredada de forma natural o por genética, es decir que es propia de cada familia o grupo bacteriano. También se puede definir la resistencia intrínseca como una propiedad específica de las bacterias, en este caso todas las bacterias de una misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos y pueden sobrevivir en caso de que se emplee dicho antibiótico. (73) (74)

- **Adquirida**

La resistencia adquirida es variable y aparece por cambios o modificaciones genéticas en el ADN bacteriano, es decir por mutación y por la adquisición de transposones, plásmido e integrones, la resistencia adquirida puede ser, a su vez cromosómica o extracromosómica, este tipo de resistencia supone un gran problema y es la que se estudia en la clínica y en el laboratorio. (75)

La resistencia cromosómica se origina por resistencia espontánea y la resistencia extracromosómica se produce por incorporación del material genético mediada por transposones, plásmidos e integrones. (74)

Los plásmidos son fragmentos de ADN bacteriano con la capacidad de replicarse, mientras que los transposones son cadenas cortas de ADN que saltan de un cromosoma a un plásmido. Algunos plásmidos y transposones poseen elementos genéticos denominados integrones, que les permite capturar varios genes dando lugar a una resistencia a los antibióticos. (76) (75)

2.2.7.2 Mecanismos de resistencia

Existen tres mecanismos de defensa por los cuales una bacteria puede resistir a los antibióticos:

- **Inactivación enzimática del antibiótico**

Es el principal mecanismo de defensa a los antibióticos, estas enzimas hidrolizan el anillo betalactámico así inactivan el antibiótico antes de la unión a las PBP. Son capaces de destruir mediante la hidrólisis a los antibióticos betalactámicos a las penicilinas y cefalosporinas de hasta tercera generación. (77) (74) (78) (71)

- **Alteración o modificación del sitio blanco del antibiótico**

Las bacterias son capaces de producir mutaciones en los genes de las porinas para impedir la entrada de ciertos antibióticos o son capaces de alterar el sistema de transporte, también pueden inducir la salida del antibiótico por un mecanismo de expulsión. (77) (74) (78) (71)

- **Barreras de permeabilidad**

Las bacterias pueden ocasionar alteraciones en la permeabilidad de la membrana externa, ocasionado por las porinas, sobre todo en Gram negativos, la membrana externa al ser rica en lípidos es impermeable a las sustancias hidrofílicas y actúa como una barrera, bloqueando el paso del antibiótico al espacio periplasmático. (77) (74) (78) (71)

2.3 HIPÓTESIS O SUPUESTOS

Hipótesis alternativa (H1)

La determinación de Betalactamasas de Espectro Extendido tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli* se relacionan con la resistencia antimicrobiana.

Hipótesis nula (H0)

La determinación de Betalactamasas de Espectro Extendido tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli* no se relacionan con la resistencia antimicrobiana.

2.3.1 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES

2.3.1.1 VARIABLE INDEPENDIENTE:

Resistencia antimicrobiana.

2.3.1.2 VARIABLE DEPENDIENTE:

Betalactamasas de Espectro Extendido tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli*.

CAPÍTULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN

El enfoque de la investigación es cuali-cuantitativa. Es cualitativa porque mediante técnicas de observación y partiendo de la muestra de orina se determinaron las características físicas, químicas, microscópicas y Gram de gota fresca, además se realizó el cultivo, siembra, pruebas bioquímicas y el Gram del microorganismo que determinaron la presencia o ausencia del microorganismo. Es cuantitativa porque asigna valores numéricos a las observaciones, es decir por medio del crecimiento de colonias aisladas en el medio de cultivo se pudo cuantificar al microorganismo a estudiar ya que se usó un asa calibrada de 0,5 milímetros y también se midió en milímetros los halos de inhibición de los antibióticos de los antibiogramas, con el propósito de estudiar con métodos estadísticos las posibles relaciones entre las variables y arrojar resultados confiables.

3.2 NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

Descriptiva

La investigación es descriptiva porque se describió todo el proceso a realizarse, métodos para la obtención de los resultados, a través de los datos obtenidos se trató de buscar una solución al problema de la resistencia bacteriana en los pacientes que acuden al Hospital General Provincial de Latacunga.

Experimental

La investigación es experimental porque se utilizaron procedimientos, es decir técnicas microbiológicas llevadas a cabo en el laboratorio para tratar de comprobar la hipótesis, relacionada con el tema a investigar.

Correlacional

La investigación es correlacional porque se relacionó las variables que posiblemente son la causa-efecto, es decir se puso en marcha la variable independiente: determinación de Betalactamasas de espectro extendido tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli*, para así poder observar el efecto producido en la variable dependiente: resistencia a los antimicrobianos, precisando de esta forma la causa-efecto.

3.3 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

De laboratorio

La investigación es de laboratorio porque se realizaron distintas pruebas como: el examen elemental y microscópico de orina, urocultivo, Gram, pruebas bioquímicas y el antibiograma para poder cumplir los objetivos planteados.

Documental

La investigación es documental porque se sustentó con la ayuda de diferentes libros de microbiología médica, artículos científicos, manuales prácticos de bacteriología, tesis publicadas e internet para poder validar y respaldar la investigación que se lleva acabo.

De campo

La investigación es de campo porque se estuvo en contacto en el lugar de los hechos, con hombres y mujeres que presentan infecciones de las vías urinarias. La información y las muestras de orina se recogerán de los pacientes ambulatorios y hospitalizados que acuden al Hospital General Provincial de Latacunga.

3.4 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO

Delimitación temporal

La investigación se realizó en el periodo Febrero – marzo 2017.

Delimitación espacial

La investigación se realizó en el Hospital General Provincial de Latacunga.

3.5 POBLACIÓN

Se realizaron 142 urocultivos de los pacientes que acuden al Hospital General Provincial de Latacunga.

3.6 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión

- Muestras de orina de pacientes que no estén recibiendo antibióticos.
- Muestras recogidas adecuadamente.

Criterios de exclusión

- Muestras de orina de pacientes que estén recibiendo antibióticos.
- Muestras contaminadas.

3.7 DISEÑO MUESTRAL

Se analizaron 142 muestras de orina a los que se les realizó cultivos, de los cuales solo en 46 se obtuvo crecimiento bacteriano, 96 resultaron negativos. De los 46 positivos, solo en 40 se obtuvo crecimiento de *Escherichia coli*, por lo tanto, se realizó la investigación con 40 cepas de *Escherichia coli* que fueron identificadas en muestras de orina de pacientes que acudieron al Hospital General Provincial de Latacunga.

3.8 OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Tabla N° 3. Variable independiente: Resistencia antimicrobiana.

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEMS	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Es un fenómeno por el cual la bacteria suprime el efecto del antibiótico que es destinado para eliminarla y continua multiplicándose y causando daño en el organismo a través de mutaciones cromosómicas y el intercambio del nuevo material genético.	-Inmunidad a los antibióticos.	-Aztreonam ≤ 27 mm -Ceftazidima ≤ 22 mm -Cefotaxima ≤ 27 mm -Ceftriaxona ≤ 25 mm	- ¿Cuáles son los antibióticos a los que presenta resistencia antimicrobiana?	-Urocultivo. -Pruebas bioquímicas -Antibiograma. -Documento CLSI M100.	-Observación
	-Halos de inhibición.	-Medida en milímetros de los halos de inhibición. -Bordes de los halos de inhibición irregulares o distorsionados.	- ¿Cómo se encuentran los halos de inhibición?	-Antibiograma (Método Kirby Bauer) - Regla o Calibrador.	-Observación
	-Mutaciones cromosómicas.	-Cambios en el ADN bacteriano. -Modificaciones del sitio blanco del antibiótico. -Síntesis e hiperproducción de enzimas.	- ¿Cuáles son los factores de resistencia a causa de las mutaciones cromosómicas?	-Bibliografía.	-Observación -Documentos

Elaborado por: Darío Álvarez

Tabla N° 4. Variable dependiente: Betalactamasas de Espectro Extendido tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli*.

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEMS	TÉCNICA	INSTRUMENTO
<p>Las Betalactamasas AmpC son enzimas capaces de hidrolizar cefalosporinas de primera, segunda y hasta de tercera generación y cefamicinas, pero no hidrolizan cefalosporinas de cuarta generación ni carbapenémicos. La cloxacilina, el ácido borónico y el tazobactam, inhiben a las Betalactamasas AmpC, mientras que el ácido clavulánico no lo hace.</p>	<p>-AmpC</p>	<p>-Ceftazidima: Resistente -Cefotaxima: Resistente -Ceftriaxona: Resistente -Cefoxitina: Resistente -Cefepime: Sensible -Carbapenems: Sensible</p>	<p>-Presencia o ausencia de la producción de Betalactamasas tipo AmpC.</p>	<p>-Método de aproximación de discos. -Método de sinergia de doble disco.</p>	<p>-Cuaderno de notas y registros. -Reporte de resultados.</p>

Elaborado por: Darío Álvarez

3.9 DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.

Fase pre-analítica

Para la realización de este proyecto de investigación se procedió de la siguiente manera:

1. Se presentó el oficio dirigido por parte de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Técnica de Ambato al Gerente del Hospital General Provincial de Latacunga para que autorice la realización de este proyecto de investigación en el área de Microbiología del Laboratorio Clínico durante el periodo Febrero – marzo 2017.
2. Se presentó la respuesta del oficio anterior al Jefe del laboratorio Clínico del Hospital General Provincial de Latacunga para que autorice el uso de las instalaciones del área de Microbiología.
3. Se presentó el oficio al encargado del Laboratorio Clínico UTA-LAB para que autorice la realización de este proyecto de investigación en el área de Microbiología durante el periodo Febrero – marzo 2017.
4. Se procedió a la toma de muestra según los criterios de inclusión y exclusión.
5. Se pidió el consentimiento informado.

Fase analítica

6. Se prepararon medios de cultivo: agar EMB, agar CLED, Agar MacConkey, agar Muller Hinton y la batería de pruebas bioquímicas: Citrato, TSI, Urea, SIM, RM/VP.
7. Se realizaron exámenes complementarios al urocultivo como son el EMO y el Gram de Gota Fresca.
8. Se realizó el urocultivo a todas las muestras según los criterios de inclusión y exclusión.
9. Se realizó el antibiograma por el método de disco difusión Kirby Bauer según las normas de la CLSI.

10. Se realizó la detección de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) mediante el método de sinergia con discos de Aztreonam, Ceftazidima, Cefotaxima y Amoxicilina-Acido Clavulánico y posteriormente se realizó su confirmación por el método propuesto por la CLSI con discos de Cefotaxima-Acido Clavulánico mas Cefotaxima y Ceftazidima-Acido Clavulánico mas Ceftazidima.
11. Se realizó la detección de Betalactamasas tipo AmpC mediante el método de aproximación de discos propuesto por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) con discos de cefoxitina, imipenen, cefotaxima, y ceftazidima.
12. Se realizó la detección de Betalactamasas tipo AmpC mediante método de sinergia de doble disco propuesto por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) con discos de cefotaxima, ceftazidima y ácido borónico.
13. Se realizó pruebas piloto con la cepa ATCC *Escherichia coli* 25922 para garantizar la calidad de los resultados.
14. La cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 se conservó en medio Stuart con el fin de mantenerla segura durante todo el proceso de la investigación.

Fase post-analítica

1. Se estudiaron 40 muestras positivas para *Escherichia coli*, durante el periodo Febrero – marzo 2017.
2. Se registraron todos los datos y resultados de las muestras.

Plan de procesamiento de la información

Para el plan de procesamiento de la información se utilizó el programa Estadístico Microsoft Excel.

Presentación de datos

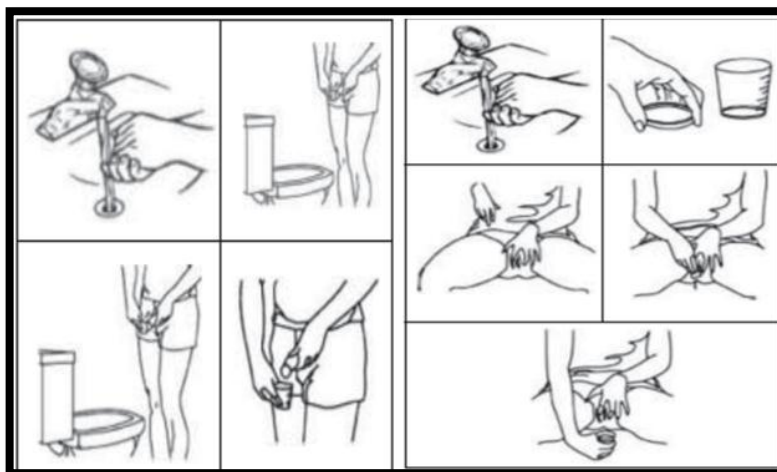
Para la presentación de datos de la investigación se realizó de forma escrita, tabular y gráfica.

DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS, TÉCNICAS Y ANÁLISIS

Toma de muestra de orina

De su manipulación y recogida depende la calidad de los resultados, es decir los resultados de las pruebas dependen mucho de la calidad de la muestra. Para tener una muestra de orina de calidad tanto el personal de salud como el paciente deben conocer cuáles son los factores que pueden afectarla. Para ello se puede capacitar al paciente con un lenguaje claro y comprensivo acompañado de gráficos e ilustraciones, para así evitar muestras contaminadas que pueden afectar los resultados. De los diferentes tipos de muestras la primera orina de la mañana es considerada la que mejor resultados proporciona debido a que está más concentrada. Las recomendaciones para la toma de muestra se detallan a continuación:

Ilustración N° 3. Toma de muestra de orina en hombres (izquierda) y toma de muestra de orina en mujeres (derecha).



Fuente: (79)

Toma de muestra de orina en hombres

1. Lavarse las manos con agua y jabón.
2. Retraer el prepucio para atrás y lavar el glande.
3. Limpiar y secar con una toalla limpia.
4. Orinar el primer chorro en el inodoro.
5. Recoger el chorro medio en un frasco de boca ancha limpio y estéril.
6. Orinar el resto en el inodoro.

Toma de muestra de orina en mujeres.

1. Lavarse las manos con agua y jabón.
2. Separar los labios vaginales.
3. Limpiar y secar los genitales con una toalla limpia.
4. Orinar el primer chorro en el inodoro.
5. Recoger el chorro medio en un frasco de boca ancha limpio y estéril.
6. Orinar el resto en el inodoro.

Examen elemental y microscópico de la orina

Análisis de orina

Para el análisis de orina se recomienda que se realice dentro de las 2 primeras horas de recibir la muestra porque después de este tiempo los elementos presentes en la orina como los eritrocitos y leucocitos empiezan a destruirse, también empieza la proliferación bacteriana, el pH empieza a aumentar por degradación de la urea y así mismo la oxidación de la bilirrubina y el urobilinógeno empieza a tomar lugar. Si no es posible el estudio dentro de las 2 horas se puede conservar la muestra en la nevera a 4 °C.

Procedimiento

Examen físico

1. Comprobar que la muestra de orina este identificada correctamente con los datos del paciente.
2. Homogenizar el frasco.
3. Traspasar la muestra de orina a un tubo de ensayo y llenas las $\frac{3}{4}$ partes.
4. Llevar la muestra a la luz para analizar el color.
5. Colocar la muestra en un fondo blanco para analizar el aspecto.
6. Registrar lo observado.

Examen químico

7. Sumergir la tira reactiva en el tubo de ensayo durante 30 segundos.
8. Sacar la tira reactiva por las paredes del tubo y eliminar el exceso de la muestra.
9. Esperar de un minuto a dos y comparar con el envase de los compuestos químicos.
10. Registrar los parámetros que presenta la tira reactiva.

Examen microscópico

11. Colocar el tubo de ensayo en la centrifuga a 3000 RPM durante 7 minutos.
12. Decantar el sobrenadante.
13. Dar pequeños golpes al tubo de ensayo para garantizar una correcta homogenización del sedimento urinario.
14. Colocar una gota del sedimento urinario en un portaobjetos.
15. Colocar un cubreobjetos.
16. Observar en el microscopio.
17. Registrar lo observado.

Gram de gota fresca

El Gram de gota fresca permite identificar el tipo de bacteria que se encuentra en la orina mediante la tinción, se considera que existe una infección cuando se observa 1 bacteria por campo en 10 campos como mínimo.

Procedimiento

1. Homogenizar la muestra de orina.
2. Colocar una gota en un portaobjetos sin centrifugar.
3. Fijar sobre el portaobjetos mediante el calor.
4. Esperar a que el portaobjetos se enfrié antes de aplicar el colorante.
5. Cubrir el portaobjetos con cristal violeta durante un minuto.
6. Lavar el frotis con un chorro fino de agua.
7. Cubrir el portaobjetos con lugol durante un minuto.
8. Lavar el frotis con un chorro fino de agua.
9. Cubrir el portaobjetos con alcohol acetona durante 30 segundos.
10. Lavar el frotis con un chorro fino de agua.
11. Cubrir el portaobjetos safranina durante un minuto
12. Lavar el frotis con un chorro fino de agua.
13. Secar el frotis.
14. Observar en el microscopio forma y Gram.

Examen Microbiológico

Cultivo

El cultivo es una mezcla de sustancias que proporcionan todos los elementos necesarios para el crecimiento y multiplicación de bacterias a través de un medio sólido o líquido en un ambiente artificial en el laboratorio. Es un método empleado para el estudio de enfermedades infecciosas en el hombre y animales. (80) (31)

PREPARACIÓN DE AGARES Y MEDIOS DE CULTIVO

AGAR MACCONKEY

El agar MacConkey es un medio selectivo y de diferenciación para bacilos Gram negativos fermentadores (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter*) formando colonias rosas o rojas y no fermentadores de lactosa (*Salmonella spp*, *Shigella spp* y *Proteus spp*) formando colonias blancas o incoloras. El medio está compuesto por sales biliares, cristal violeta, peptonas y lactosa, todos estos compuestos ayudan a la inhibición del crecimiento de bacilos Gram positivos. (81)

Preparación:

19,81 gr con 400 ml de agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, autoclavar a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir de 25 a 30 ml en cada caja Petri.

AGAR EMB (EOSIN METHYLENE BLUE)

El agar EMB es un medio selectivo y de diferenciación para Enterobacterias, es utilizado para el aislamiento y crecimiento de bacilos Gram negativos, permite inhibir el crecimiento de bacilos Gram positivos. Es un medio compuesto de peptonas, sacarosa y lactosa que permite diferenciar los organismos fermentadores (dando colonias de un color azul – moradas con brillo metálico) de los no fermentadores (dando colonias incoloras). (82)

Preparación:

19,81 gr con 400 ml de agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, autoclavar a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir de 25 a 30 ml en cada caja Petri.

AGAR CLED (CYSTEINE LACTOSE ELECTROLYTE DEFICIENT)

El agar CLED es un medio para el aislamiento y diferenciación de organismos patógenos urinarios, debido a que es un medio deficiente en electrolitos permite inhibir el crecimiento de especies de *Proteus spp.* Es un medio compuesto de peptonas, lactosa, cistina y azul de bromotimol que permite diferenciar los organismos fermentadores (dando colonias de un color amarillo) de los no fermentadores (dando colonias azuladas). (83)

Preparación:

19,81 gr con 400 ml de agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, autoclavar a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir de 25 a 30 ml en cada caja Petri.

AGAR MULLER HINTON

El agar Muller Hinton es un medio utilizado y recomendado por la CLSI para determinar la sensibilidad de cepas aisladas a determinados antimicrobianos por el método de disco difusión. Es un medio nutritivo bajo en sulfoamidas, trimetoprima y tetraciclina que permite el crecimiento de una gran cantidad de microorganismo, además cuando se le añade sangre al 5% permite el aislamiento de microorganismos exigentes. (84)

Preparación:

15,2 gr con 400 ml de agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, autoclavar a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir 25 a 30 ml en cada caja Petri.

INTERPRETACIÓN DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS

AGAR SIMMONS CITRATO

Fundamento

El agar Simmons citrato es utilizado para la diferenciación de la familia *Enterobacteriaceae*, determina si la bacteria utiliza el citrato como fuente de carbono y energía.

Indicador

Utiliza el azul de bromotimol.

Acido verde pH 6.9

Alcalino azul pH 7.6

Siembra

Se siembra con un asa mediante la técnica de punción mixta en estriado en pico de flauta en un cultivo puro.

Incubación

Se incuba a 35-37°C por 24-48 horas.

Resultados

Positivo: el medio cambia a color azul.

La bacteria utiliza la citratasa para degradar el citrato y obtener productos alcalinos como el amoníaco, la bacteria utiliza el citrato y el fosfato monoamónico como fuente de nitrógeno.

Negativo: el medio permanece de color verde.

La bacteria no utiliza el citrato como única fuente de carbono.

Preparación:

2,42 gr con 100 ml de agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, autoclavar a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir 5 ml en cada tubo, dejar solidificar en pico de flauta.

AGAR TSI (HIERRO TRIPLE AZÚCAR)

Fundamento

El agar hierro triple azúcar es utilizado para la diferenciación de la familia *Enterobacteriaceae*, determina si la bacteria fermenta los hidratos de carbono, la producción de gas y ácido sulfhídrico.

Indicador

Utiliza el rojo fenol.

Acido amarillo pH 6.8.

Alcalino rojo pH 8.4.

Siembra

Se siembra con un asa mediante la técnica de punción mixta en estriado en pico de flauta.

Incubación

Se incuba a 35-37°C por 24-48 horas.

Resultados

A/A (amarillo/amarillo)

La bacteria fermenta los tres azúcares (glucosa, sacarosa y lactosa), por lo tanto, el pH cambia a amarillo por la producción de productos ácidos.

K/A (rojo/amarillo)

La bacteria fermenta solo glucosa produciendo ácidos (color amarillo), la glucosa se encuentra en una cantidad pequeña, la cual no alcanza como fuente de energía y carbono, por lo tanto, utiliza las peptonas como otra fuente de energía, lo cual produce amoníaco dando un pH alcalino en donde toma el color rojo.

A/A más Gas (amarillo/amarillo)

La bacteria fermenta los tres azúcares (glucosa, sacarosa y lactosa), por lo tanto, el pH cambia a amarillo por la producción de productos ácidos, y la producción de gas se da debido a la producción de iones hidrógeno.

K/A más Gas (rojo/amarillo)

La bacteria fermenta solo glucosa produciendo ácidos (color amarillo), la glucosa se encuentra en una cantidad pequeña, la cual no alcanza como fuente de energía y carbono, por lo tanto, utiliza las peptonas como otra fuente de energía, lo cual produce amoníaco dando un pH alcalino en donde toma el color rojo, no degrada los otros azúcares y la producción de gas se da debido a la producción de iones hidrógeno.

A/A más H₂S (negro)

La bacteria fermenta los tres azúcares (glucosa, sacarosa y lactosa), por lo tanto, el pH cambia a amarillo por la producción de productos ácidos, el H₂S solo se produce en medios ácidos ennegrecimiento del medio.

K/A más H₂S (rojo/negro)

La bacteria fermenta solo glucosa produciendo ácidos (color amarillo), la glucosa se encuentra en una cantidad pequeña, la cual no alcanza como fuente de energía y carbono, por lo tanto, utiliza las peptonas como otra fuente de energía, lo cual produce amoníaco dando un pH alcalino en donde toma el color rojo, no degrada los otros azúcares y el H₂S solo se produce en medios ácidos ennegrecimiento del medio.

K/K (rojo/rojo)

La bacteria no fermenta los azúcares (glucosa, sacarosa y lactosa), degrada las peptonas, por lo tanto, el pH es alcalino, permaneciendo rojo.

Preparación:

6,45 gr con 100 ml de agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, autoclavar a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir 5 ml en cada tubo, dejar solidificar en pico de flauta.

AGAR UREA

Fundamento

El agar Urea es utilizado para la diferenciación de la familia *Enterobacteriaceae* en base a la actividad ureásica. Determina si la bacteria hidroliza la urea en NH₃ y CO₂ por acción de la enzima ureasa.

Indicador

Utiliza el rojo fenol.

Acido amarillo pH 6.8

Alcalino rojo pH 8.4

Siembra

Se siembra con un asa mediante la técnica de punción mixta, se estría toda la superficie del pico de flauta en un cultivo puro.

Incubación

Se incuba a 35-37°C por 24-48 horas.

Resultados

Positivo: el medio cambia de color de amarillo a rojo.

La bacteria utiliza la ureasa para degradar la urea y obtener amoniaco, este producto alcaliniza el medio haciendo virar el rojo fenol del amarillo al rojo.

Negativo: el medio permanece de color amarillo.

Preparación:

5,05 gr con 200 ml de agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, autoclavar a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir 5 ml en cada tubo, dejar solidificar en pico de flauta.

MEDIO SIM (SULFHÍDRICO INDOL MOVILIDAD)

Fundamento

Es un medio semisólido es utilizado para la diferenciación de la familia *Enterobacteriaceae*. Determina si la bacteria es capaz de degradar el triptófano por la enzima triptófanasa para formar el indol.

S= determina H₂S.

I= determina el Indol.

M= determina la motilidad.

Indicador

Utiliza el reactivo de Kovac's.

Siembra

Se siembra con un asa en punta con la técnica de punción recta en el centro del tubo y la punción debe abarcar dos tercios de la profundidad del medio de cultivo desde la superficie.

Incubación

Se incuba a 35-37°C por 24 horas.

Resultados

Positivo:

Motilidad: Turbidez en todo el medio.

H₂S: Se ennegrece el medio. La bacteria más el tiosulfato de sodio da H₂S incoloro, necesita una reacción auxiliar para ser evidenciada. H₂S mas sulfato de hierro y amonio para dar sulfuro férrico (color negro se precipita y evidencia la producción de H₂S)

Indol: para poder visualizar se coloca tres o cuatro gotas del reactivo de Kovac's para originar un compuesto rojo.

Negativo:

Motilidad: Turbidez alrededor de la picadura.

H₂S: Incoloro.

Indol: Incoloro.

Preparación:

3,62 gr con 100 ml de agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, autoclavar a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir 5 ml en cada tubo, dejar solidificar en pico de flauta.

MEDIO RM-VP (ROJO DE METILO/ VOGES PROSKAUER)

Fundamento

La glucosa puede ser metabolizada por la bacteria, a través de distintas vías metabólicas, según la vía utilizada se originan productos finales ácidos o productos finales neutros, esta diferencia puede ser reconocida por la adición de un indicador como el rojo de metilo.

Indicador

Utiliza el rojo de metilo.

Acido rojo pH 4.2.

Neutro amarillo pH 6.0.

Siembra

Se siembra por inoculación directa y se agita con un asa a partir de un cultivo puro.

Incubación

Se incuba a 35-37°C durante 24-48 horas.

Resultados

Positivo: el medio cambia de color amarillo a color rojo.

Negativo: el medio permanece de color amarillo.

Preparación:

1,7 gr con 100 ml de agua destilada.

Hervir y disolver completamente el medio, autoclavar a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos, dejar que se enfríe y repartir 5 ml en cada tubo, dejar solidificar en pico de flauta.

UROCULTIVO

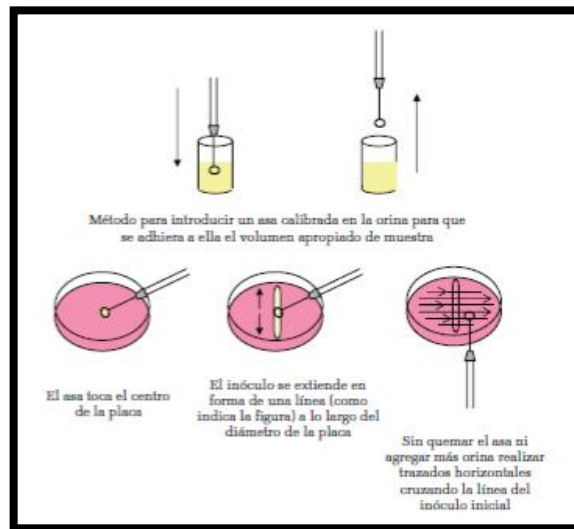
El urocultivo tiene como finalidad detectar la presencia abundante de bacterias que indican una infección del tracto urinario, cistitis o pielonefritis. Un urocultivo se considera negativo cuando, después de 48 a 72 horas de incubación no se observa el crecimiento de colonias y se considera positivo cuando el número supera las 100.000 UFC/mL. (85) Valores entre 10.000 y 100.000 UFC/mL se consideran dudosos y se recomienda la obtención de una nueva muestra y repetición del urocultivo, mientras que valores por debajo de 10.000 UFC/mL se consideran contaminantes por bacterias de la región perineal. (86)

Procedimiento

Primer día

1. Homogenizar bien la orina mediante inversiones del frasco.
2. Esterilizar el asa calibrada con ayuda del mechero Bunsen.
3. Sumergir verticalmente el asa calibrada y asegurarse que lleve una gota de orina.
4. Sembrar en agar MacConkey, EMB y CLED.
5. Incubar a 37 °C por 24 – 48 horas.

Ilustración N° 4. Método para introducir verticalmente el asa calibrada en la orina y la técnica de siembra por estría en la placa.

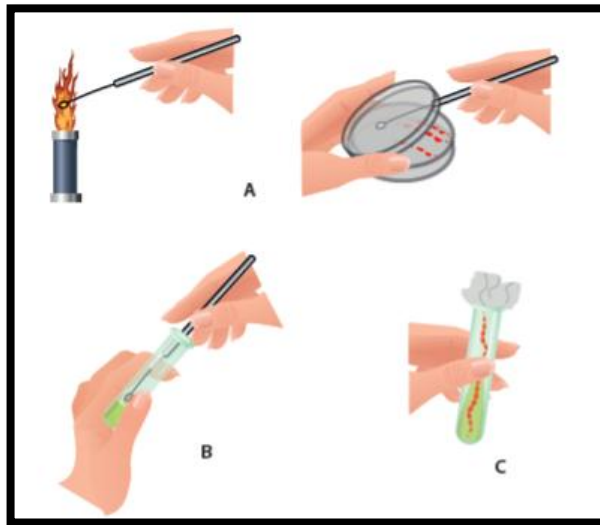


Fuente: (87)

Segundo día

6. Reportar si el crecimiento es puro o mixto.
7. Cuantificar las colonias UFC/mL.
8. Describir las características macroscópicas de las bacterias.
9. Realizar el Gram de las colonias.
10. Realizar las pruebas bioquímicas.
11. Esterilizar el asa y tomar una colonia aislada del cultivo.
12. Realizar la siembra mediante la técnica de punción mixta hasta la parte inferior del tubo, pero sin tocar el fondo y se van haciendo estrías en zigzag.
13. Realizar la siembra en Citrato, TSI, Urea, SIM, RM/VP.
14. Incubar las pruebas bioquímicas a 37 °C por 24 – 48 horas.

Ilustración N° 5. Método para esterilizar el asa calibrada y la técnica de siembra por estría en zigzag en los tubos para las pruebas bioquímicas.



Fuente: (88)

Tinción Gram

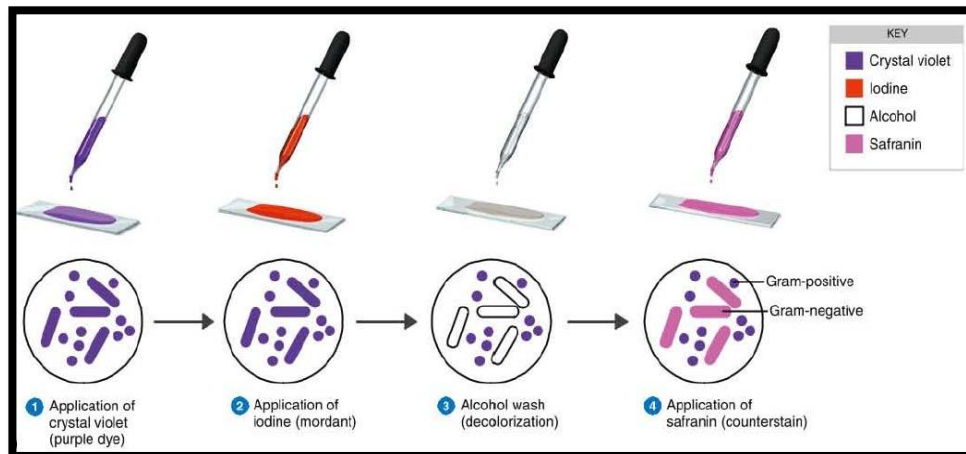
El Gram permite identificar la morfología celular bacteriana para poder tener una idea de la diferenciación bacteriana, las bacterias Gram positivas se teñirán de color azul-morado y las Gram negativas se teñirán de color rojo-rosado.

Procedimiento

1. Tomar una cepa bacteriana con un asa estéril.
2. Realizar un frotis delgado y uniforme.
3. Fijar la bacteria sobre el portaobjetos mediante el calor.
4. Esperar a que el portaobjetos se enfrié antes de aplicar el colorante.
5. Cubrir el portaobjetos con cristal violeta durante un minuto.
6. Lavar el frotis con un chorro fino de agua.
7. Cubrir el portaobjetos con lugol durante un minuto.
8. Lavar el frotis con un chorro fino de agua.
9. Cubrir el portaobjetos con alcohol acetona durante 30 segundos.
10. Lavar el frotis con un chorro fino de agua.
11. Cubrir el portaobjetos safranina durante un minuto
12. Lavar el frotis con un chorro fino de agua.

13. Secar el frotis.
14. Observar en el microscopio forma y Gram.

Ilustración N° 6. Técnica para realizar la tinción de Gram tras la fijación de la muestra.



Fuente: (89)

Tercer día

15. Reportar género y especie de la bacteria.
16. Realizar el antibiograma si amerita según las normas del CLSI.

ANTIBIOGRAMA

MÉTODO DE DISCO DIFUSIÓN CON LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER

Para realizar las pruebas de sensibilidad se utiliza la técnica descrita por Bauer, Kirby, Sherris y Turk que determina la CIM a los antimicrobianos. Dicha resistencia se puede detectar exponiendo los aislamientos bacterianos a los discos de antibióticos (estos discos contienen una concentración predeterminada que permite una correlación más o menos precisa con la CIM de dicho antibiótico) que se colocan en la superficie de una placa previamente inoculada, después de la incubación el diámetro de los halos de inhibición de cada disco se mide en milímetros según las normas del CLSI. (28) (90)

Suspensión directa de colonias

Para la suspensión directa de colonias se selecciona de 3 a 5 colonias aisladas y de un cultivo puro, se toma las colonias con un aplicador estéril y se suspende en un tubo con solución salina. Luego se ajusta el inóculo a una turbidez del estándar de 0,5 McFarland, esto se realiza utilizando el turbidímetro o con un fondo blanco con líneas negras como contraste. (28)

Escala McFarland

Para la comparación visual se utiliza la escala estandarizada 0,5 McFarland de la empresa Estadounidense Hardy Diagnostics para justar la turbidez con el inóculo de la suspensión bacteriana preparada en un fondo blanco con líneas negras como contraste. Si la suspensión bacteriana es demasiado turbia se puede agregar solución salina y si es demasiado clara se toma más colonias para igualar la turbidez 0,5 McFarland. (28)

Preparación para la inoculación de las placas

Después de unos 15 minutos de ajustar la suspensión del inóculo se debe agitar la suspensión para asegurarse que este bien mezclada y con un aplicador estéril remover el exceso del líquido presionando contra la pared del tubo. (28)

Inoculación de las placas

Para la inoculación de las placas se toma el hisopo y se hace una siembra masiva en toda la superficie en tres direcciones y los bordes para asegurar que el inóculo sea distribuido en toda placa, dentro de los 15 minutos siguientes aplicar los discos. (28)

Selección de discos para el antibiograma

Los discos deben estar previamente una hora a temperatura ambiente antes de ser aplicados. Una vez de esperar los 15 minutos los discos pueden colocarse uno a uno con una pinza estéril. Los discos deben ser colocados con una ligera presión y estar separados a una distancia de 20 mm entre ellos. No se deben colocar más de 12 discos en una placa de 150 mm de diámetro o más de 5 discos en una placa de 100 mm de diámetro. (28)

Incubación de las placas

Para la incubación de las placas deben ser invertidas a una temperatura de 35 - 37 °C. (28)

Lectura de las placas

Después de 16 a 18 horas de incubación retirar las placas de la estufa y examinar las placas para comprobar que el crecimiento sea uniforme y circular. Los diámetros de las zonas de inhibición deber ser medidas con una regla o con un calibrador sobre una superficie con un fondo negro no reflectante y se ilumina con luz reflejada. Cualquier desarrollo dentro de las zonas de inhibición es indicativo de resistencia. (28)

Interpretación de los resultados

- **Sensible**

El antibiótico puede inhibir al microorganismo y puede ser una elección en el tratamiento. (91)

- **Intermedio**

- El antibiótico puede ser efectivo a elevadas dosis. (91)

- **Resistente**

El antibiótico no puede inhibir al microorganismo y no puede ser una elección en el tratamiento. (91)

Normas para interpretar el antibiograma según la CLSI

El *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* es un organismo sin fines de lucro que promueve el desarrollo de estándares y normas de prácticas clínicas y de laboratorio para promover la calidad y los servicios de atención médica en todo el mundo.

Los laboratorios de Microbiología para emitir sus reportes y resultados se basan en las tablas que son emitidas, desarrolladas, planificadas y revisadas minuciosamente por el CLSI.

Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE).

Se usó el método de sinergia para detectar una posible BLEE y posteriormente el método propuesto por la CLSI para su confirmación. Los discos recomendados por la CLSI son: Aztreonam (ATM) (30 ug), Ceftazidima (CAZ) (30 ug), Cefotaxima (CTX) (30 ug), Ceftriaxona (CRO) (30 ug) y Amoxicilina-Acido Clavulánico (AMC) (20/10 ug).

En la placa Muller Hinton se coloca al centro el disco de Amoxicilina-Acido Clavulánico (AMC) (20/10 ug) y a una distancia de 20 mm se colocan los discos de Ceftazidima (CAZ) (30 ug), Cefotaxima (CTX) (30 ug) y Aztreonam (ATM) (30 ug).

Se considera como posible BLEE si existe un halo menor o igual para los siguientes antibióticos:

- Aztreonam ≤ 27 mm
- Ceftazidima ≤ 22 mm
- Cefotaxima ≤ 27 mm
- Ceftriaxona ≤ 25 mm

Si el efecto de sinergia entre el inhibidor y las cefalosporinas produce una deformación de los halos en forma de “huevo” o “cola de pescado” también se considera como posible BLEE.

Para su confirmación se usan los siguientes antibióticos:

Discos de Cefotaxima-Acido Clavulánico (CTX+C) y Cefotaxima (CTX) y Ceftazidima-Acido Clavulánico (CAZ+C) y Ceftazidima (CAZ). El tamaño de los halos de los discos Cefotaxima-Acido Clavulánico (CTX+C) y Ceftazidima-Acido Clavulánico (CAZ+C) debe ser mayor a 5 mm en comparación con la Cefotaxima (CTX) y Ceftazidima (CAZ) respectivamente.

MÉTODOS DE DETECCIÓN FENOTÍPICA DE BETALACTAMASAS TIPO AmpC EN EL LABORATORIO.

La detección de las Betalactamasas tipo AmpC debe sospecharse cuando después de realizar un antibiograma convencional por el método de disco difusión Kirby Bauer propuesto por la CLSI presenten halos de resistencia a las cefamicinas (cefoxitina) y a las cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima) y sensibilidad a las cefalosporinas de cuarta generación (cefepime) y los carbapenémicos (imipenem y meropenem). Para la detección de Betalactamasas tipo AmpC actualmente no existen métodos estandarizados por el CLSI, sin embargo, la SEIM ha diseñado diversos métodos para su detección fenotípica con elevada sensibilidad y especificidad, pero para su confirmación es necesario recurrir a técnicas de biología molecular. Los métodos más usados y sencillos se detallan a continuación: (92)

Método de aproximación de discos.

Para realizar esta prueba se sigue el procedimiento convencional para la realización de un antibiograma, se toma una placa de Agar Muller Hinton previamente inoculada con la cepa problema en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland, en la cual se coloca un disco inductor fuerte (cefotaxima o imipenem) a una distancia de 27 mm centro a centro de un disco de inductor débil (cefotaxima, ceftazidima, ceftriazona). Se ha hallado que la combinación imipenem-piperacilina/tazobactam presenta mayor sensibilidad y especificidad. (68) (69)

Incubación de las placas

Para la incubación de las placas deben ser invertidas a una temperatura de 35 - 37 °C.

Lectura de las placas

Después de 16 a 18 horas de incubación retirar las placas de la estufa y examinar las placas.

Resultados

Se considera un resultado positivo si se observa un halo de inhibición truncado o un achatamiento en el disco inductor débil. (68) (69)

Método de sinergia de doble disco.

Para realizar esta prueba se sigue el procedimiento convencional para la realización de un antibiograma, se toma una placa de Agar Muller Hinton previamente inoculada con la cepa problema en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland, en la cual se coloca un disco de cefotaxima, ceftazidima y cefotaxima a una distancia de 20 – 25 mm centro a centro de un disco de ácido borónico. (68) (69)

Incubación de las placas

Para la incubación de las placas deben ser invertidas a una temperatura de 35 - 37 °C.

Lectura de las placas

Después de 16 a 18 horas de incubación retirar las placas de la estufa y examinar las placas. (68) (69)

Resultados

La producción de AmpC se demuestra por la ampliación o deformación del halo de inhibición por cualquiera de los discos Betalactámicos hacia el disco del ácido borónico. (19) (68) (69)

3.10 ASPECTOS ÉTICOS

La información obtenida para la realización de la presente investigación tuvo absoluta confidencialidad, se utilizaron los datos y respetando la privacidad de cada una de las personas, mediante la realización de un consentimiento informado el que se explicaron los fines de la investigación, el método por el cual va a evaluar dicha investigación y solicitando al paciente si desea ser parte o no de la investigación.

En el reglamento del ministerio de salud pública se mencionan los siguientes artículos para la toma de muestras:

Art 37.- Los laboratorios de diagnóstico clínico deben atender a sus usuarios sin discriminación por motivos de origen, género, generación pertenencia étnica, religión, orientación sexual, discapacidad, o cualquier otra condición que vulnere sus derechos constitucionales.

Art 40.- Los laboratorios de diagnóstico clínico no utilizaran las muestras de los usuarios para fines comerciales o que violen la confidencialidad de los resultados sin el consentimiento previo del usuario.

Art 41.- Los profesionales y el personal auxiliar de los servicios de laboratorio de diagnóstico clínico con acceso a la información de sus usuarios guardaran la confidencialidad de la misma.

3.11 CONSENTIMIENTO INFORMADO

En el consentimiento informado se les invito a cada una de los pacientes a participar en la investigación, se especificó la información necesaria al paciente de una manera comprensible, el aceptar y firmar el consentimiento informado autoriza al paciente a participar en el estudio, así como también permite al investigador utilizar la información recolectada en la investigación.

CAPITULO IV

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente proyecto de investigación se enfocó en la determinación e identificación de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasas tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli* en urocultivos procedentes de los pacientes que acuden al Hospital General Provincial de Latacunga.

Para esto se realizó un tamizaje por medio de exámenes de laboratorio como es el urocultivo y posteriormente se realizó el antibiograma para determinar la resistencia que presenta *Escherichia coli* ante los antibióticos.

Los resultados y datos obtenidos se detallaron mediante tablas y gráficos de los análisis del urocultivo y el antibiograma.

4.1 TABULACIÓN

De los 46 cultivos positivos, en 40 se obtuvo crecimiento de *Escherichia coli*, por lo tanto, se realizó la investigación con 40 cepas de *Escherichia coli* que fueron identificadas en muestras de orina de pacientes que acudieron al Hospital General Provincial de Latacunga.

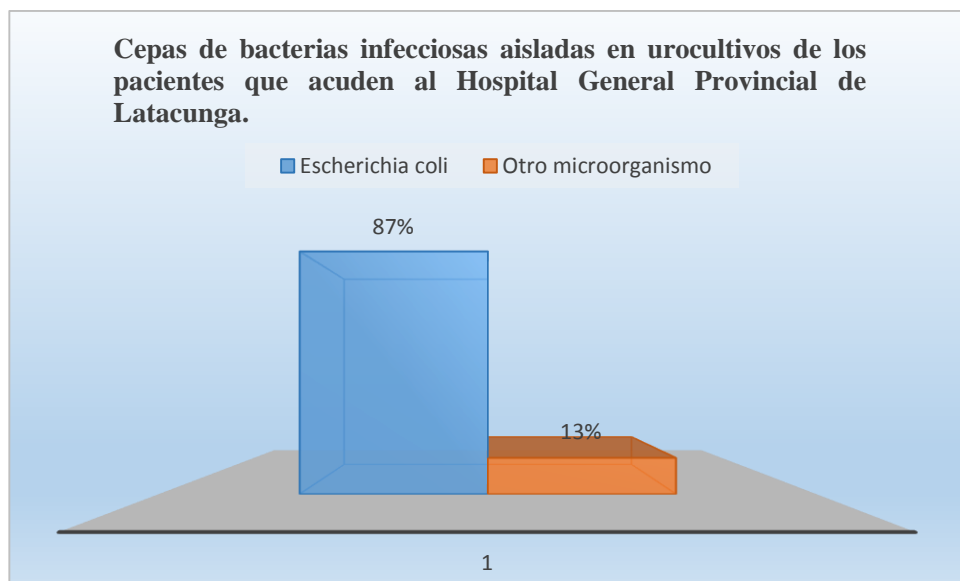
Tabla N° 5. Cepas de bacterias infecciosas aisladas en urocultivos de los pacientes que acuden al Hospital General Provincial de Latacunga.

UROCULTIVOS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<i>Escherichia coli</i>	40	87%
Otro microorganismo	6	13%
TOTAL	46	100%

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 1. Cepas de bacterias infecciosas aisladas en urocultivos de los pacientes que acuden al Hospital General Provincial de Latacunga.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

De las 46 muestras positivas, 40 muestras corresponden a *Escherichia coli* lo que representa el 87% y 6 muestras corresponden a otros microorganismos lo que representa el 13%.

Interpretación:

De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo apreciar que *Escherichia coli* es el microorganismo más identificado lo que representa el 87%.

En Cuenca un estudio realizado por Paul León y Gabriela Vásquez (2013), en los Centros de Salud 1,2 y 3 identificaron en muestras de orina: *Escherichia coli* 45,98%, Cocos Gram positivos 35,27%, *Klebsiella oxytoca* 3,57% y *Klebsiella pneumoniae* 1,34%. (93)

Estudios realizados en la ciudad de Quito por Rosa Vallejo (2014), en el Hospital San Francisco de Quito (IESS) en muestras de orina, identifico *Escherichia coli* 92%, *Klebsiella pneumoniae* 7,6% y *Proteus mirabilis* 0,4%. (94)

De igual manera estudios realizados en la ciudad de Loja por Pablo Villavicencio (2015), en el Hospital General Isidro Ayora, identifico en muestras de orina *Escherichia coli* 80% y otros microorganismos 20%. (95)

Como se puede observar en distintos estudios realizados en nuestro país dan a conocer que el microorganismo aislado con mayor frecuencia en muestras de orina es *Escherichia coli*, lo que se le puede atribuir a los distintos factores de virulencia que posee como son los antígenos, adhesinas, toxinas, sideroforos entre otros, lo que le da la propiedad de evadir las defensas inmunológicas del organismo.

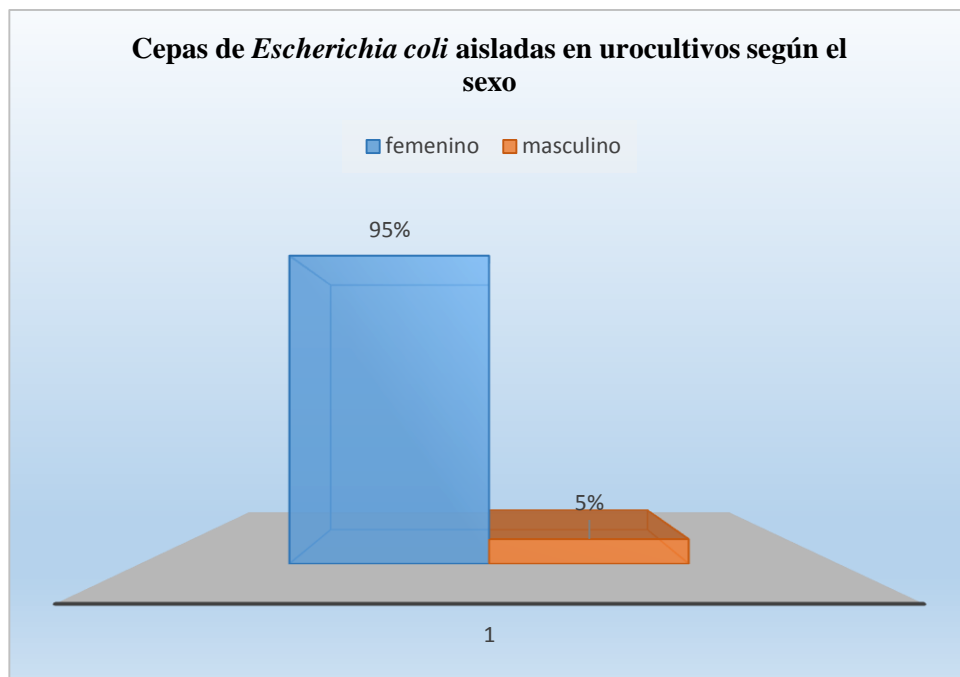
Tabla N° 6. Cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos según el sexo.

SEXO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
FEMENINO	38	95%
MASCULINO	2	5%
TOTAL	40	100%

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 2. Cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos según el sexo.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

De las 40 muestras analizadas, 38 muestras corresponden a pacientes de sexo femenino lo que representa el 95% y 2 muestras corresponden a pacientes de sexo masculino lo que representa el 5%.

Interpretación:

De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo apreciar que la mayor parte de los pacientes pertenecen al género femenino lo que representa el 95% del grupo de estudio.

Las infecciones del tracto urinario son 10 veces más frecuentes en las mujeres que en los hombres, esto se debe a que anatómicamente la uretra en la mujer es mucho más corta y que además se encuentra más cerca de la ano lo que aumenta el riesgo de contraer infecciones de bacterias de la flora fecal. (96)

Otra de las causas de las infecciones del tracto urinario son el uso del diafragma y espermicidas, las mujeres que usan diafragma como método anticonceptivo tienen más probabilidades de contraer infecciones que las mujeres que no las usan, esto se debe a que alteran el hábitat vaginal disminuyendo los bacilos de Döderlein y aumentando la colonización vaginal por *Escherichia coli*. (97)

La falta de una higiene adecuada, así como la frecuencia en las relaciones y el número de parejas sexuales y por último antecedentes de infecciones del tracto urinario en la adolescencia constituyen otros factores de riesgo para la mujer. (98)

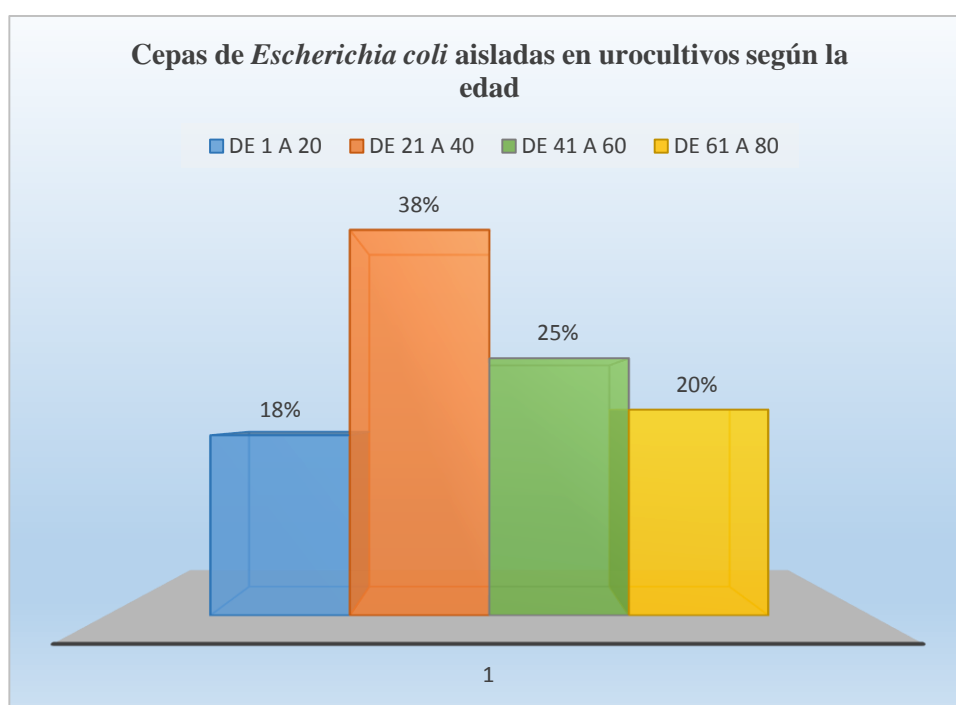
Tabla N° 7. Cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos según la edad.

EDAD	FRECUENCIA	PORCENTAJE
DE 1 A 20	7	18%
DE 21 A 40	15	38%
DE 41 A 60	10	25%
DE 61 A 80	8	20%
TOTAL	40	100%

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 3. Cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos según la edad.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

De las 40 muestras analizadas, 7 muestras corresponden a pacientes que están en la edad entre 1 y 20 años lo que representa el 18%, 15 muestras corresponden a pacientes que están en la edad entre 21 y 40 años lo que representa el 38%, 10 muestras corresponden a pacientes que están en la edad entre 41 a 60 años lo que representa el 25,0% y 8 muestras corresponden a pacientes que están en la edad entre 61 a 80 años lo que representa el 20,0%.

Interpretación:

De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo apreciar que la mayor parte de los pacientes se encuentran en el rango de edad entre 21 y 40 años lo que representa el 38% del grupo de estudio.

Estudios sugieren que las infecciones del tracto urinario en la mujer aumentan en 1% en las niñas entre los 5 y 14 años de edad, después de iniciar la vida sexual la incidencia aumenta en un 4% en la mujer adulta y por ultimo aumenta un 2% por cada década de vida. (99)

Alrededor de un 20% de mujeres presentan infecciones del tracto urinario a lo largo de su vida siendo la edad comprendida entre los 20 y 50 años cuando las infecciones se presentan con mayor frecuencia y tan solo afecta al 0,1% de los hombres en el mismo rango de edad. (100)

En los años 2002 y 2003 en un estudio realizado por la Universidad Nacional de Colombia se determinó que cerca del 84,4 % de infecciones de vías urinarias corresponde a mujeres entre los 15 y 44 años de edad. (101)

Se considera que las edades comprendidas entre los 15 y 40 años son las que afectan más a la mujer porque empieza con el inicio de su vida sexual lo que incrementa las infecciones de vías urinarias en unas 3,5 veces.

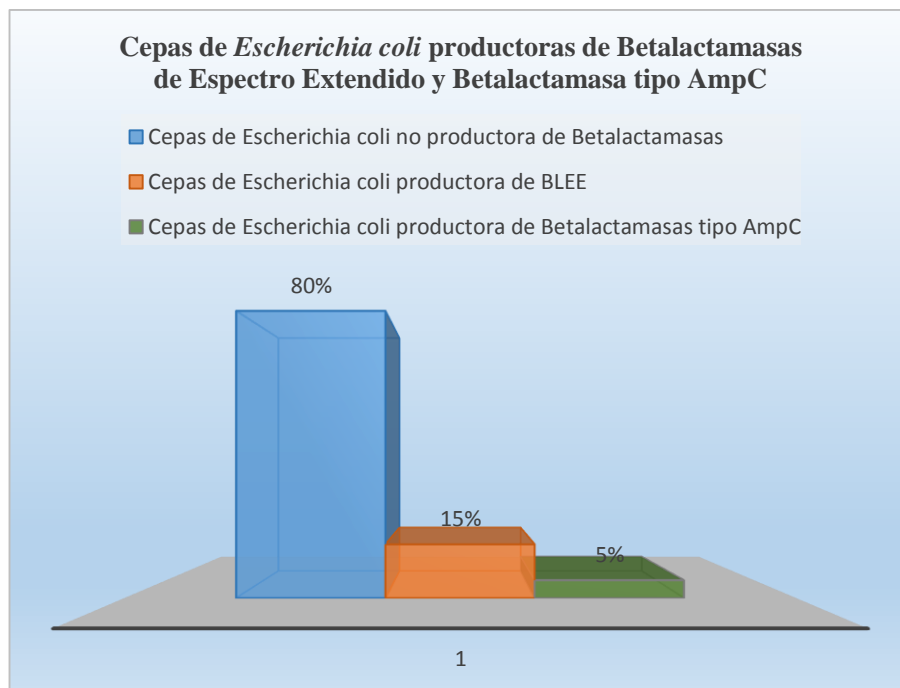
Tabla N° 8. Cepas de *Escherichia coli* productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC.

BETALACTAMASAS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Cepas de <i>Escherichia coli</i> no productora de Betalactamasas	32	80%
Cepas de <i>Escherichia coli</i> productora de BLEE	6	15%
Cepas de <i>Escherichia coli</i> productora de Betalactamasas tipo AmpC	2	5%
TOTAL	40	100%

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 4. Cepas de *Escherichia coli* productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

De las 8 muestras que presentan resistencia, 6 muestras presentan Betalactamasas de Espectro Extendido lo que representa el 15% y 2 muestras presentan Betalactamasas tipo AmpC lo que representa el 5%.

Interpretación:

Estudios similares realizados en la ciudad de Loja por Yomaira Malla (2014) en el Hospital Manuel Ygnacio Monteros identifico que el 64,51% corresponde a Betalactamasas de Espectro Extendido y el 35,48% a otros mecanismos de resistencia, de la misma manera identifico que el 15,78% corresponde a Betalactamasas tipo AmpC y el 84,21% a otros mecanismos de resistencia. (102)

Abigail Torres en la ciudad de Loja (2014) en el Hospital Manuel Ygnacio Monteros identifico que el 19,2% corresponde a Betalactamasas de Espectro Extendido, 3,8% a Betalactamasas tipo AmpC, 1,3% a carbapemenasas y el 75,6% a otros mecanismos. (15)

Como se puede apreciar las Betalactamasas de Espectro Extendido tienen una mayor relevancia que las Betalactamasas tipo AmpC en nuestro medio.

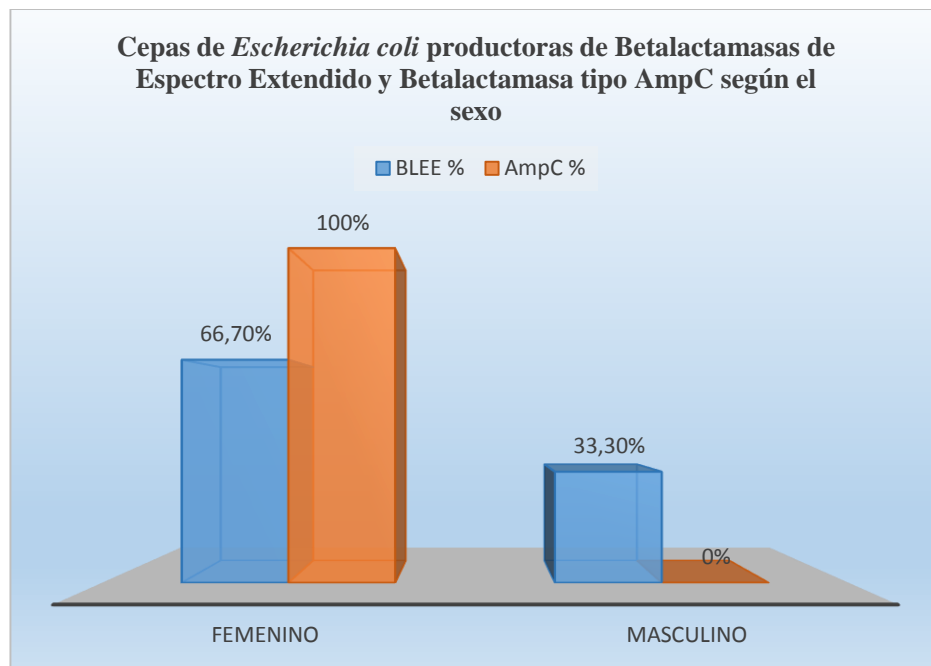
Tabla N° 9. Cepas de *Escherichia coli* productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC según el sexo.

SEXO	BLEE		AmpC	
	F	%	F	%
FEMENINO	4	66,7%	2	100%
MASCULINO	2	33,3%	0	0%
TOTAL	6	100%	2	100%

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 5. Cepas de *Escherichia coli* productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC según el sexo.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

De las 6 muestras analizadas que fueron productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido, 4 muestras corresponden a pacientes de sexo femenino lo que representa el 66,7% y 2 muestras corresponden a pacientes de sexo masculino lo que representa el 33,3%.

De las 2 muestras analizadas que fueron productoras de Betalactamasas tipo AmpC, las 2 muestras corresponden a pacientes de sexo femenino lo que representa el 100%.

Interpretación:

De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo apreciar que la mayor parte de los pacientes pertenecen al género femenino lo que representa el 66,7% de Betalactamasas de espectro extendido y el 100% de Betalactamasas tipo AmpC del grupo de estudio.

Como ya se mencionó anteriormente las mujeres son más propensas a adquirir infecciones de vías urinarias que los hombres con una relación de 1:10 debido a que la ubicación de los genitales en la mujer se encuentra más cercanos a la región perianal además de otros factores como el uso de diafragmas, el número de parejas sexuales y antecedentes de infecciones de vías urinarias en la adolescencia.

En el caso de los hombres las infecciones y resistencias se presentan solo durante el primer año de vida y en mayores de 50 años con problemas de la próstata. (103)

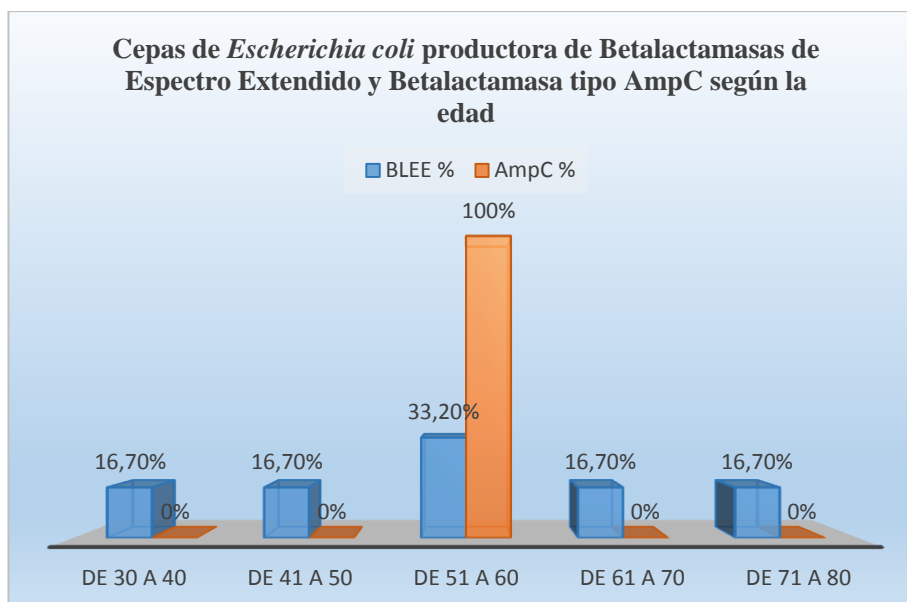
Tabla N° 10. Cepas de *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC según la edad.

EDAD	BLEE		AmpC	
	F	%	F	%
DE 30 A 40	1	16,7%	0	0%
DE 41 A 50	1	16,7%	0	0%
DE 51 A 60	2	33,2%	2	100%
DE 61 A 70	1	16,7%	0	0%
DE 71 A 80	1	16,7%	0	0%
TOTAL	6	100%	2	100%

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 6. Cepas de *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de Espectro Extendido y Betalactamasa tipo AmpC según la edad.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

De las 6 muestras analizadas que fueron productoras de Betalactamasas de espectro extendido, 1 muestra corresponden a un paciente que están en la edad entre 30 y 40 años lo que representa el 16,7%, 1 muestra corresponde a un paciente que están en la edad entre 41 a 50 años lo que representa el 16,7%, 2 muestras corresponden a pacientes que están en la edad entre 51 a 60 años lo que representa el 33,2%, 1 muestra corresponde a un paciente que esta entre la edad de 61 a 70 años lo que representa el 16,7%, y 1 muestra corresponde a un paciente que están en la edad entre 71 a 80 años lo que representa el 16,7%.

De las 2 muestras analizadas que fueron productoras de Betalactamasas tipo AmpC, las 2 muestras corresponden a pacientes que están en la edad entre 51 y 60 años lo que representa el 100%.

Interpretación:

De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo apreciar que la mayor parte de los pacientes se encuentran en el rango de edad entre 51 y 60 años lo que representa el 33,2% de Betalactamasas de espectro extendido y el 100% de Betalactamasas tipo AmpC del grupo de estudio.

La edad constituye un factor predisponente para desarrollar infecciones y por ende resistencias, debido a que las personas mayores componen una de las poblaciones que más se enferma, las infecciones son más probables y suelen ser más graves en las personas mayores que en los jóvenes y constituyen una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la población geriátrica. Además de esto se suma otros factores como la decadencia de la fuerza y el sistema inmunológico, así como la prevalencia de desarrollar enfermedades crónicas como son las enfermedades pulmonares, cáncer, diabetes entre otras, todo esto hace que los ancianos sean más susceptibles de ingresar a hospitales donde aumenta el riesgo de contraer infecciones causadas por microorganismos resistentes productores de Betalactamasas. (104) (105)

Estudios realizados en la ciudad de Quito (2014) por Vladimir Capilla, en el Hospital Carlos Andrade Marín, identifico que las Enterobacterias productoras de BLEE se dan en los grupos etarios de 62-72 años y en los adultos mayores de 73 años lo que represento el 50% de urocultivos positivos para BLEE. (106)

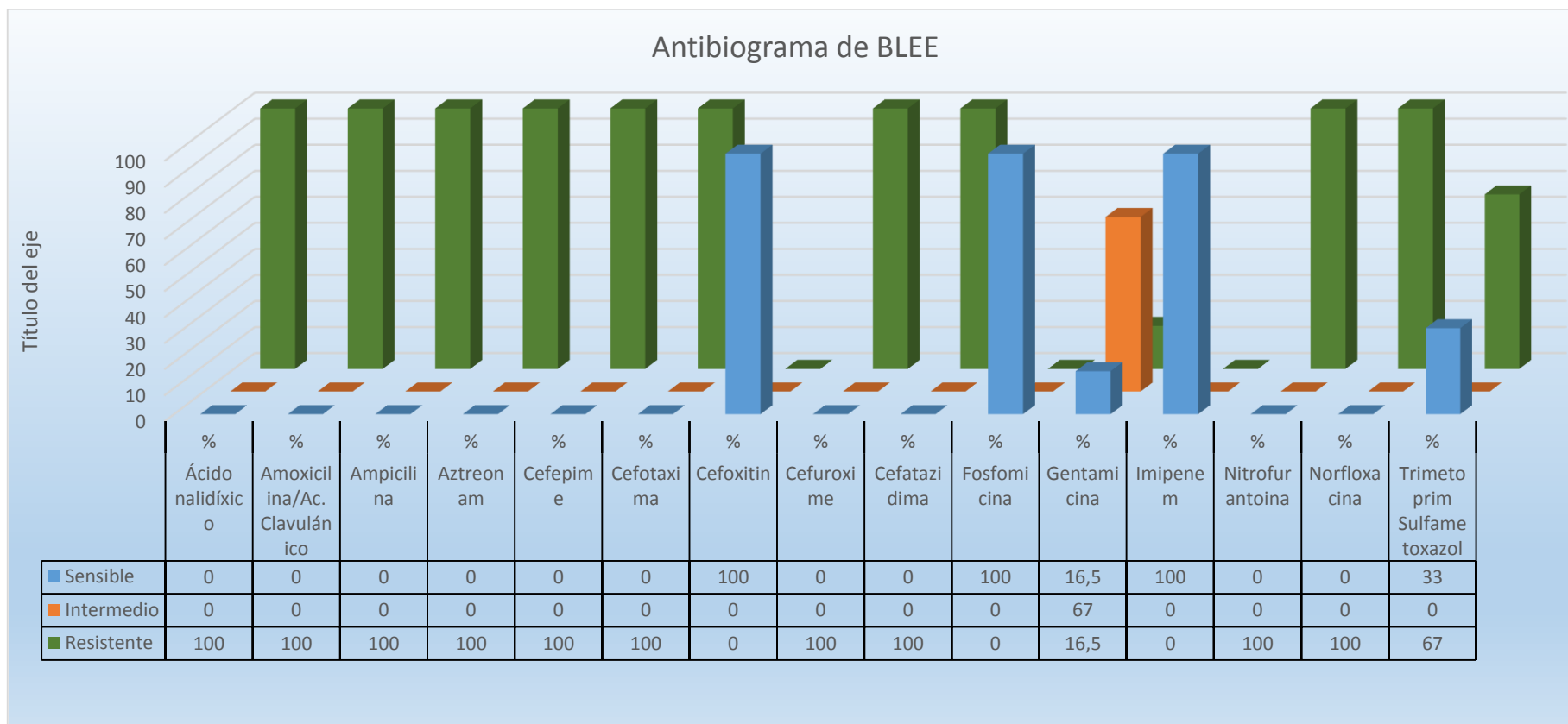
Tabla N° 11. Antibiograma de BLEE

	Ácido nalidíxico		Amoxicilina/Ac. Clavulánico		Ampicilina		Aztreonam		Cefepime		Cefotaxima		Cefoxitín		Cefuroxime		Cefatazidima		Fosfomicina		Gentamicina		Imipenem		Nitrofurantoina		Norfloxacina		Trimetoprim Sulfametoxazol	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Sensible	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	06	100	00	00	00	00	06	100	01	16,5	06	100	00	00	00	00	02	33
Intermedio	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	04	67	00	00	03	50	00	00	00	00
Resistente	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	00	00	06	100	06	100	00	00	01	16,5	00	00	03	50	06	100	04	67
Total	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100	06	100

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 7. Antibiograma de BLEE



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

De los 6 antibiogramas realizados para *Escherichia coli*, el 100% es resistente a ácido nalidíxico, amoxicilina/Ac. Clavulánico, ampicilina, aztreonam, cefepime, cefotaxima, cefuroxime, ceftazidima, nitrofurantoina y norfloxacin, el 67 % es resistente a sulfametoxazol/trimetoprim y el 16,5% es resistente a gentamicina.

El 67 % se encuentra con una sensibilidad intermedia a gentamicina.

Mientras que el ceftazidima, fosfomicina y el imipenem son sensibles al 100%, el sulfametoxazol/trimetropina es sensible con un 33% y la gentamicina es sensible con un 16,5 %.

Interpretación:

Se determinó que el tratamiento de elección para las Betalactamasas de Espectro Extendido son el ceftazidima, fosfomicina y el imipenem porque tienen una sensibilidad del 100%, según este estudio.

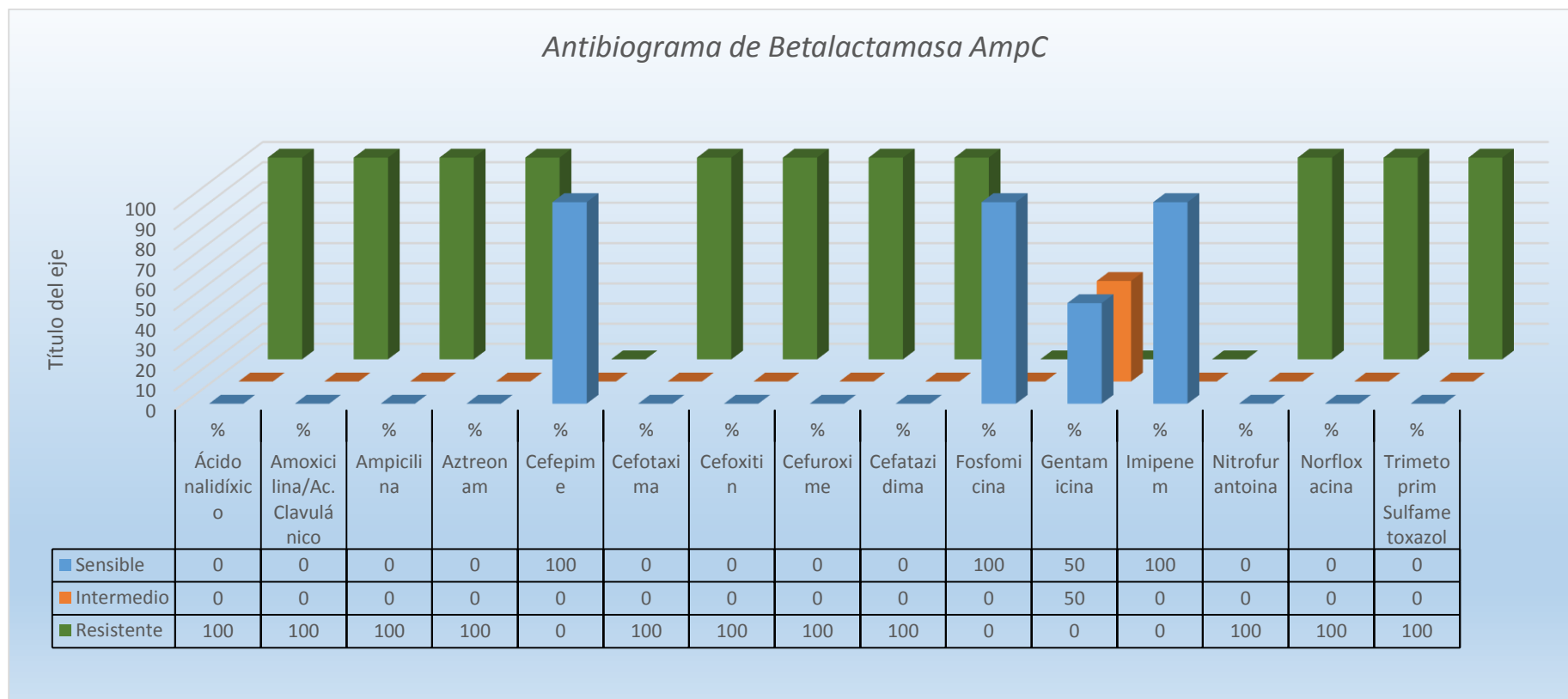
Tabla N° 12. Antibiograma de Betalactamasa AmpC

	Ácido nalidíxico		Amoxicilina/Ac. Clavulánico		Ampicilina		Aztreonam		Cefepime		Cefotaxima		Cefoxitín		Cefuroxime		Cefatazidima		Fosfomicina		Gentamicina		Imipenem		Nitrofurantoina		Norfloxacina		Trimetoprim Sulfametoxazol	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Sensible	00	00	00	00	00	00	00	00	02	100	00	00	00	00	00	00	00	00	02	100	01	50	02	100	00	00	00	00	00	00
Intermedio	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	01	50	00	00	00	00	00	00	00	00
Resistente	02	100	02	100	02	100	02	100	00	00	02	100	02	100	02	100	02	100	00	00	00	00	00	00	02	100	02	100	02	100
Total	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100	02	100

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Gráfico N° 8. Antibiograma de Betalactamasa AmpC



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Análisis:

De los 2 antibiogramas realizados para *Escherichia coli*, el 100 % es resistente a ácido nalidíxico, amoxicilina/Ac. Clavulánico, ampicilina, aztreonam, cefotaxima, cefoxitin, cefuroxime, ceftazidima, nitrofurantoina, norfloxacin y sulfametoxazol/trimetropina.

El 50 % se encuentra con una sensibilidad intermedia a gentamicina.

Mientras que el cefepime, fosfomicina y el imipenem son sensibles al 100% y la gentamicina es sensible con un 50 %.

Interpretación:

Se determinó que el tratamiento de elección para las Betalactamasas AmpC son el cefepime, fosfomicina y el imipenem porque tienen una sensibilidad del 100%, según este estudio.

4.2 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

De las 40 muestras de orina analizadas que presentaron *Escherichia coli*, 6 muestras presentaron BLEE y 2 muestras presentaron Betalactamasas tipo AmpC.

Por medio de los datos obtenidos y tabulados en el programa de Microsoft Excel y en vista que los resultados de resistencia antimicrobiana es elevada, se rechaza la Hipótesis nula “La determinación de Betalactamasas de Espectro Extendido tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli* no se relaciona con la resistencia antimicrobiana” y se acepta la Hipótesis alterna “La determinación de Betalactamasas de Espectro Extendido tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli* se relaciona con la resistencia antimicrobiana”

CAPÍTULO V

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Se logró identificar 40 cepas *Escherichia coli* provenientes de muestras de orina donde el 15% corresponde a cepas productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido y el 5% corresponde a cepas productoras de Betalactamasas tipo AmpC, además se determinó que *Escherichia coli* muestra un elevado porcentaje de resistencia antimicrobiana a diversas familias de antibióticos.
- Se logró identificar 6 cepas de *Escherichia coli* productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido mediante el método de disco difusión Kirby Bauer, posteriormente se realizó el método confirmatorio de disco combinado propuesto por la CLSI que fue positivo en todos los casos.
- Se logró detectar 2 cepas de *Escherichia coli* que mostraron resistencia a la cefoxitina y a las cefalosporinas de tercera generación, estas 2 cepas fueron consideradas como sospechosas de producir Betalactamasas tipo AmpC y fueron confirmadas por el método de aproximación de discos y el método de sinergia de doble disco propuesto por la SEIMC mostrando resultados positivos en ambos métodos.
- Se logró determinar que la combinación de discos cefoxitin, cefotaxima, ceftazidima mas ácido borónico y la combinación de discos cefoxitin, cefotaxima, imipenen mas piperacilina/tazobactam son métodos óptimos para la detección fenotípica de Betalactamasas tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli* en los laboratorios de microbiología para el diagnóstico clínico de rutina.
- Se determinó que *Escherichia coli* presenta un alto porcentaje de resistencia antimicrobiana, en especial a los antibióticos Betalactámicos como son las cefalosporinas de tercera generación, antibióticos que son ampliamente

utilizados en la práctica clínica debido a que son los más numerosos, tienen una buena distribución y escasa toxicidad.

- Se estableció que para el tratamiento de Enterobacterias productoras de BLEE se deben utilizar antibióticos como cefoxitin, imipenem y fosfomicina y para el tratamiento de Betalactamasas tipo AmpC se deben utilizar antibióticos como cefepime, imipenem y fosfomicina porque presentaron una sensibilidad del 100% de acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación.
- Se detectó que el mayor número de pacientes con Enterobacterias productoras de Betalactamasas se dan en los grupos de edad comprendidos entre los 51 y 60 años alcanzando un tercio de casos positivos para BLEE y la totalidad de casos positivos para AmpC.
- Se logró determinar que la mujer es más susceptible a contraer infecciones de vías urinarias que el hombre y a presentar cepas de *Escherichia coli* que sean tipo BLEE y tipo AmpC.

5.2 RECOMENDACIONES

- La identificación de Betalactamasas de Espectro Extendido es una técnica habitual en todos los Laboratorios de Microbiología pero la identificación de Betalactamasas tipo AmpC no lo es, muchos laboratorios no realizan la detección de enzimas AmpC debido a que desconocen de su importancia clínica, de igual forma no existen métodos estandarizados por el CLSI y también requiere métodos costosos de biología molecular para su confirmación, sin embargo en el desarrollo de esta investigación se han mencionado métodos sencillos y accesibles para su detección fenotípica.
- Se debería implementar este método de detección en nuestro país porque muchas Betalactamasas tipo AmpC están asociadas a fracasos terapéuticos y también porque durante el tratamiento con cefalosporinas se vuelven resistentes por lo que es importante su investigación.
- Se aconseja realizar estudios similares a nivel nacional para tener una idea epidemiológica de la incidencia y el porcentaje de estas Betalactamasas tipo AmpC para así tener datos de multirresistencia en nuestro país.

- Se recomienda realizar campañas de concientización sobre el uso y abuso irracional de los antibióticos, así como de la automedicación en la población para evitar el desarrollo de mecanismos de multirresistencia porque constituyen un gran problema de salud pública y generan grandes costos económicos tanto a los hospitales como al paciente.
- Así mismo se recomienda a los médicos prescribir medicamentos solo cuando sea estrictamente necesario y una vez que hayan confirmado una dolencia a través de pruebas de laboratorio.
- También se recomienda a los Laboratorios Clínicos establecer protocolos más estrictos a la hora de procesar las muestras y emitir resultados 100% válidos y confiables ya que los médicos se orientan por los resultados del laboratorio para prescribir un antibiótico y poder combatir una infección bacteriana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BIBLIOGRAFÍA

1. Aquiahualt Ramos MdlA, Volke Sepulveda T. Manual de Practicas de Laboratorio de Microbiología General. Primera ed. Ramos A, editor. México D.F.: UAM Iztapalapa; 2012. (88)
2. Bush, Jacoby, Medeiros. [Online].; 1995. (60)
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. <http://clsi.org/>. [Online].; 2017 [cited 2017 Mayo 24. (107)
4. Getzlaff SP, Polsfuss, Poledica. Detection of AmpC Beta-Lactamase in Escherichia coli: Comparison of Three Phenotypic Confirmation Assays and Genetic Analysis. journal of clinical microbiology. 2011 Aug.; 49(8). (21)
5. Japoni Nejad A, Ghaznavi rad E. Characterization of Plasmid-Mediated AmpC and Carbapenemases among Iranain Nosocomial Isolates of Klebsiella pneumoniae Using Phenotyping and Genotyping Methods. elsevier. 2014 September; 5(6). (17)
6. Karthikeyan G, Ritu Garg NG. AmpC β -lactamases in nosocomial isolates of Klebsiella pneumoniae from India. Indian J Med Res 1. 2012 August. (18)
7. Leboffe MJ, Pierce BE. A Photographic Atlas For The Microbiology Laboratory. 4th ed. Morton DN, editor. United States of America: Morton Publishing; 2012. (46)
8. Liu X, Liu Y. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase in Escherichia coli. biomedical reports. 2016 April; 4(6). (22)
9. Lopardo HA. Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología. Primera ed. Lopardo HA, editor. Buenos Aires. (44)

10. Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. *Biología de los microorganismos*. Duodécima ed. Romo M, Martinez M, editors. Madrid: Pearson Educacion S.A.; 2009. (31)
11. Madigan MT, Martinko JM, Dunlap Pv, Clark DP. *Brock Biología de los Microorganismos*. Duodécima ed. Romo MM, editor. Madrid: Pearson Addison Wesley; 2015. (34)
12. Murray PR, Rosenthal KS. *Microbiología Medica*. Sexta ed. Elsevier, editor.; 2009. (41)
13. NO Y, N. A, E B, O O. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Indian Association of Medical Microbiologists*. 2013 June 05; 31(1). (20)
14. Parveen R. M, B. N., S. C. P. ampc beta lactamases among gram negative clinical isolates from a tertiary hospital, south india. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2010 June 05. (19)
15. Sasirekha, Shivakumar. Ocurrencia de AmpC mediada por plásmidos β -lactamasas Entre *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* aislados clínicos en un hospital de tercer nivel de atención en Bangalore. *Indian Journal of Microbiology*. 2012 June; 52(2). (16)
16. Villegas MV, Esparza, Zurita J. *Guía para la implementación de un programa de optimización de antimicrobianos (PROA) a nivel hospitalario*. Primera ed. Arboleda C, editor. Quito: Hominem Editores; 2016. (63)

LINKOGRAFÍA

1. Alós JI. www.elsevier.es/eimc. [Online].; 2014 [cited 2014 Diciembre 01]. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas->

microbiologia-clinica-28-articulo-resistencia-bacteriana-los-antibioticos-una-S0213005X14003413. (2)

2. Arguedas Quezada JA. [Online].; 2010. Available from: <https://cefalosporinas.files.wordpress.com/2010/09/cefalosporinas.pdf>. (53)
3. Bustos Gonzales A. <http://www.medigraphic.com>. [Online].; 2012 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2012/eip121h.pdf>. (52)
4. Campuzano Maya G, Arbelaez Gomez M. urologiacolombiana.com. [Online].; 2007 [cited 2017 Mayo 24. Available from: <http://www.urologiacolombiana.com/revistas/abril-2007/005.pdf>. (79)
5. Canet JJ. <http://www.betelgeux.es>. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>. (43)
6. Capilla V. <http://www.dspace.uce.edu.ec>. [Online].; 2017. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/10090/1/T-UCE-0006-117.pdf>. (106)
7. Centrón D. <http://www.fmed.uba.ar>. [Online].; 2012 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.fmed.uba.ar/depto/microbiologia/teo213.pdf>. (78)
8. Chiriboga Acosta M, Araulo López C. <http://www.dspace.uce.edu.ec>. [Online].; 2012 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/644/1/T-UCE-0006-28.pdf>. (54)
9. Coyle M. <https://www.asm.org>. [Online].; 2005 [cited 2017 Abril 25. Available from: NCCLS%20 Manual%20of%20 Antimicrobial%20

Susceptibility%20Testing%20(1).pdf. (28)

10. Cuidate Plus. <http://www.cuidateplus.com>. [Online].; 2015 [cited 2017 Junio 06. Available from: <http://www.cuidateplus.com/enfermedades/ginecologicas/infeccion-urinaria.html>. (105)
11. elpais.com. [Online].; 2016 [cited 2016 Diciembre 09. Available from: http://elpais.com/elpais/2016/12/08/opinion/1481216439_904077.html. (5)
12. Fernandez Riveron F, Lopez Hernandez J. <http://bvs.sld.cu>. [Online].; 2003 [cited 2017 Abril 27. Available from: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol32_1_03/mil07103.pdf. (73)
13. Gomez J, Garcia Vasquez E, Hernandez Torres A. <http://www.seq.es>. [Online].; 2015 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/28/1/gomez.pdf>. (51)
14. Gonzalez E. <http://www.revistanefrologia.com>. [Online].; 2016 [cited 2017 Junio 06. Available from: <http://www.revistanefrologia.com/es-monografias-nefrologia-dia-pdf-monografia-4>. (103)
15. Gutierrez F. <http://www.elsevier.es>. [Online].; 2017 [cited 2017 Junio 06. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-importancia-edad-avanzada-las-infecciones-13112935>. (104)
16. Guzman M. <https://www.revistabiomedica.org>. [Online]. [cited 2017 Abril 25. Available from: <https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&sqi=2&ved=0ahUKEwiVy9WJh8HTAhXB6CYKHeL8Df8QFgggMAA&url=https%3A%2F%2Fwww.revistabiomedica.org%2Findex.php%2Fbiomedica%2Farticle%2Fdownload%2F1891%2F1917%253A%253>

Apdf&usg=AFQ. (90)

17. <http://bioinf.ibun.unal.edu.co/>. [Online]. [cited 2017 Abril 25. Available from: <http://bioinf.ibun.unal.edu.co/servicios/BLEE/OXA.php>. (67)

18. <http://farmcologiabetalactamicos.blogspot.com/>. [Online].; 2015 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://farmcologiabetalactamicos.blogspot.com/>.(49)

19. <http://himedialabs.com>. [Online].; 2011 [cited 2017 Abril 25. Available from: <http://himedialabs.com/TD/M1146.pdf>. (83)

20. <http://himedialabs.com>. [Online].; 2011 [cited 2017 Abril 25. Available from: <http://himedialabs.com/TD/M173.pdf>. (84)

21. <http://penicilina.org/>. [Online].; 2013 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://penicilina.org/>. (50)

22. <http://seq.es>. [Online]. [cited 2017 Abril 25. Available from: http://seq.es/seq/html/revista_seq/0197/ponens.html. (64)

23. <http://www.aebm.org>. [Online]. [cited 2017 Mayo 03. Available from: <http://www.aebm.org/formacion%20distancia/distancia%202007-2008/taller/monografias/2.-%20betalactamasas.pdf>. (59)

24. <http://www.cuidateplus.com>. [Online].; 2002 [cited 2017 Mayo 22. Available from: <http://www.cuidateplus.com/enfermedades/urologicas/2002/09/30/sufren-igual-hombres-mujeres-infeccion-orina-5522.html>. (96)

25. <http://www.cuidateplus.com>. [Online].; 2002 [cited 2017 Mayo 22. Available from: [82](http://www.cuidateplus.com/enfermedades/urologicas/2002/09/30/sufren-</p></div><div data-bbox=)

- igual-hombres-mujeres-infeccion-orina-5522.html. (100)
26. <http://www.cun.es>. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/porina>. (29)
27. <http://www.cun.es>. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/endotoxina>. (36)
28. <http://www.himedialabs.com>. [Online].; 2011 [cited 2017 Abril 25. Available from: <http://www.himedialabs.com/TD/M081B.pdf>. (81)
29. <http://www.himedialabs.com>. [Online].; 2011 [cited 2017 Abril 25. Available from: <http://www.himedialabs.com/TD/M317.pdf>. (82)
30. <http://www.labtestsonline.es>. [Online].; 2014 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.labtestsonline.es/tests/SensitivityTesting.html?tab=3>. (91)
31. <http://www.medigraphic.com>. [Online]. [cited 2017 Mayo 03. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2016/mim164b.pdf>. (62)
32. <http://www.pressreader.com>. [Online]. [cited 2017 Abril 24. Available from: <http://www.pressreader.com/ecuador/semana-ecuador/20160221/281621009402113>. (13)
33. <http://www.unavarra.es>. [Online]. [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2002.-%20Cultivo%20de%20microorganismos.pdf>. (80)
34. <http://www.wakopyrostar.com>. [Online].; 2014 [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.wakopyrostar.com/blog-es/post/el-impacto-de-las-endotoxinas-en-el-cuerpo-humano/>. (33)

35. <http://www.who.in>. [Online].; 2014 [cited 2017 Abril 24. Available from:
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>. (8)
36. <http://www.who.int>. [Online].; 2014 [cited 2017 Abril 27. Available from:
<http://www.who.int/features/qa/75/es/>. (70)
37. <http://www.who.int>. [Online].; 2016 [cited 2016 Septiembre. Available from:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>. (3)
38. <http://www.who.int>. [Online].; 2016 [cited 2017 Abril 24. Available from:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>. (4)
39. <http://www.who.int>. [Online].; 2016 [cited 2017 Abril 24. Available from:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>. (9)
40. <http://www.who.int>. [Online].; 2016 [cited 2017 Abril 27. Available from:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>. (72)
41. <https://medlineplus.gov>. [Online].; 2014 [cited 2017 Abril 27. Available from:
<https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003751.htm>. (85)
42. <https://www.cdc.gov>. [Online].; 2016 [cited 2017 Abril 26. Available from:
<https://www.cdc.gov/ecoli/>. (45)
43. Ibáñez Martí C. <http://www.madrimasd.org>. [Online].; 2008 [cited 2008 Julio
23. Available from:
http://www.madrimasd.org/blogs/salud_publica/2008/07/23/97377. (7)
44. iqb. www.iqb.es. [Online].; 2013 [cited 2017 Mayo 18. Available from:
<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/t007.htm>. (58)
45. JC. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from:
<http://www.lavet.com.mx/grupos-de-antibioticos-antibioticos-betalactamicos->

- 3/. (48)
46. JC. <http://www.lavet.com.mx>. [Online].; 2015 [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.lavet.com.mx/grupos-de-antibioticos-antibioticos-betalactamicos-3/>. (47)
47. Leon P, Vazquez G. <http://dspace.ucuenca.edu.ec>. [Online].; 2013 [cited 2017 Mayo 30. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4631/1/TESIS.pdf>. (93)
48. Linn L. <http://www2.paho.org>. [Online].; 2014 [cited 2017 Abril 24. Available from: http://www2.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=9512%3A2014-countries-americas-share-risk-antibiotic-resistance-must-act-now-protect-health&Itemid=1926&lang=es. (10)
49. Lopardo H, Predari S. <http://www.aam.org.ar>. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.aam.org.ar/descarga-archivos/Parte21Enterobacterias.pdf>. (24)
50. Malla Y. <http://dspace.utpl.edu.ec>. [Online].; 2014 [cited Mayo 05 30. Available from: http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/9119/1/MALLA_BRAVO_Y_OMAIR_%20MARIBEL.pdf. (102)
51. matchmyrx. matchmyrx.com. [Online].; 2017 [cited 2017 Mayo 18. Available from: <https://matchmyrx.com/es/directorio/marca/amoxicilina-sulbactam>. (57)
52. Mendez Flores A. <http://blog.ciencias-medicas.com>. [Online].; 2012 [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://blog.ciencias-medicas.com/archives/1373>. (42)

53. Merino L, Losch L. <http://ecaths1.s3.amazonaws.com>. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://ecaths1.s3.amazonaws.com/catmicromed/APUNTE%20Enterobacterias.pdf>. (39)
54. Molina Lopez J, Uribarren Berrueta T. <http://www.facmed.unam.mx>. [Online].; 2015 [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/generalidades.html>. (37)
55. Molina Lopez J. <http://www.facmed.unam.mx>. [Online].; 2015 [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/patogenicidad.html>. (40)
56. Moreno Monge KM. [Online].; 2013 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/608/art8.pdf>. (55)
57. Morones Esquivel I, Salgado Muñoz T. <http://www.medigraphic.com>. [Online].; 2016 [cited 2017 Mayo 03. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2016/mim164b.pdf>. (61)
58. Morones Ezquivel. <http://www.medigraphic.com>. [Online].; 2016 [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2016/mim164b.pdf>. (23)
59. Nakano V, Nishiyama S. <http://www.icb.usp.br>. [Online]. [cited 2017 Abril 25. Available from: http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com_content&view=article&id=47&Itemid=57&lang=es. (65)
60. Navarro F, Calvo J, Canton R. <http://www.elsevier.es>. [Online].; 2011 [cited 2017 Abril 25. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista->

enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-deteccion-fenotipica-mecanismos-resistencia-microorganismos-S0213005X11001546.

(69)

61. niddk. <https://www.niddk.nih.gov>. [Online].; 2013 [cited 2017 Mayo 22. Available from: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/enfermedades-urológicas/infecciones-urinarias>. (97)

62. Olaechea D. <http://www.dge.gob.pe>. [Online].; 2017 [cited 2017. Available from: http://www.dge.gob.pe/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=398&Itemid=248. (6)

63. Pabón Castillo M. <http://www.dspace.uce.edu.ec>. [Online].; 2014 [cited 2017 Abril 24. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/7353>. (12)

64. Pediamécum. pediamecum.es. [Online].; 2015 [cited 2017 Mayo 18. Available from: http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Amoxicilina_clavulanico.pdf. (56)

65. Perez C. <http://www.susmedicos.com>. [Online]. [cited 2017 Abril 27. Available from: http://www.susmedicos.com/art_Resistencia_Bacteriana.htm. (76)

66. Perez D. <http://www.mspsi.es>. [Online]. [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.mspsi.es/fr/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>. (71)

67. Perez Guerreo P, Galán Sanchez F, Gutierrez Saborido D. <https://www.clinicalkey.e>. [Online].; 2014 [cited 2017 Abril 26. Available from: <https://www.clinicalkey.es/#!/content/playContent/1-s2.0-S0304541214707681?returnurl=http:%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fre>

trieve%2Fpii%2FS0304541214707681%3Fshowall%3Dtrue&referrer=. (25)

68. Pinheiro P. <http://www.mdsaude.com>. [Online].; 2017 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.mdsaude.com/es/2016/04/examen-de-urocultivo.html>. (86)

69. Pirez M, Mota M. <http://www.higiene.edu.uy>. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf>. (27)

70. Pirez M, Mota M. <http://www.higiene.edu.uy>. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf>. (30)

71. Pirez M, Mota M. <http://www.higiene.edu.uy>. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf>. (38)

72. Pueeta Garcia A, Mateo Rodriguez F. <http://www.facmed.unam.mx>. [Online].; 2010 [cited 2017 Abril 26. Available from: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf. (26)

73. Rendon Medina M. medigraphic.com. [Online].; 2012 [cited 2017 Junio 06. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2012/mim125e.pdf>. (1)

74. Reyes Baque J. [Online].; 2012 [cited 2017 Mayo 22. Available from: <http://javierreyesinvestigadormanabi.blogspot.com/2012/05/prevalencia-de->

- infeccion-urinaria-en.html. (101)
75. Rojas DDVM. scielo. [Online].; 2009 [cited 2017 04 18. Available from: <http://www.scielo.org.ve/pdf/rsvm/v29n2/art03.pdf>. (68)
76. Seral C, Gude MJ. <http://seq.es>. [Online].; 2012 [cited 2017 Abril 8. Available from: <http://seq.es/seq/0214-3429/25/2/seral.pdf>. (14)
77. Seral Garcia C, Castillo FJ. <https://www.seimc.org>. [Online].; 2010 [cited 2017 Abril 25. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/ccs-2008-bacteriologia1.pdf>. (66)
78. Suarez C. <http://www.elsevier.es>. [Online].; 2008 [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-antibioticos-betalactamicos-S0213005X08000323>. (77)
79. Suarez Trueba B, Hart Caceres M, Espinosa Rivera F, Salazar Rodriguez D. <http://www.revistaapi.com>. [Online].; 2014 [cited 2017 Abril 24. Available from: http://www.revistaapi.com/wp-content/uploads/2015/05/Mat-D_API-16_4-pg215-220.pdf. (11)
80. Torres A. <http://dspace.utpl.edu.ec>. [Online].; 2014 [cited 2017 Mayo 30. Available from: http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/10825/1/Torres_Rosales_Abigail_Daniela.pdf. (15)
81. Valdevenito S. J. <http://www.scielo.cl>. [Online].; 2008 [cited 2017 Mayo 22. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182008000400004. (98)

82. Valdevenito S. JP. <http://www.scielo.cl>. [Online].; 2008 [cited 2017 Mayo 22. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182008000400004. (99)
83. Vallejo Lopez R. <http://www.dspace.uce.edu.ec>. [Online].; 2015 [cited 2017 Mayo 30. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/7353/1/T-UCE-0006-020.pdf>. (94)
84. Velasco J. <http://www.serbi.ula.ve>. [Online].; 2008 [cited 2017 Mayo 24. Available from: <http://www.serbi.ula.ve/serbiula/librose/pva/Libros%20de%20PVA%20para%20libro%20digital/Manual%20de%20Bacteriologia.pdf>. (87)
85. Vignoli R, Sejja V. <http://www.higiene.edu.uy>. [Online]. [cited 2017 Abril 27. Available from: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Principalesmecanismosderesistenciaantibiotica.pdf>. (74)
86. Villacencio P. <https://dspace.unl.edu.ec>. [Online].; 2015 [cited 2017 Mayo 30. Available from: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/13758>. (95)
87. Vivancos JC. juancarlosvivancos.com. [Online].; 2017 [cited 2017 Mayo 24. Available from: <https://juancarlosvivancos.com/truco-pared-bacteria>. (89)
88. Wachsman M. <http://www.ub.edu.ar>. [Online]. [cited 2017 Abril 27. Available from: http://www.ub.edu.ar/revistas_digitaless/Ciencias/Vol6Numero3/articulos.htm. (75)

89. www.cun.e. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from:
<http://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/endotoxina>. (32)
90. www.cun.e. [Online]. [cited 2017 Abril 26. Available from:
<http://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/endotoxina>. (35)
91. www.saludcapital.gov.c. [Online].; 2005 [cited 2017 Abril 25. Available from:
http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/SiteCollectionDocuments/Manual_Resistencia_SDS_2010.pdf. (92)

CITA BIBLIOGRÁFICA BASE DATOS UTA

1. **PROQUEST:** Avison, M. B., Underwood, S., Okazaki, A., Walsh, T. R., & Bennett, P. M. (2004). Analysis of AmpC beta]-lactamase expression and sequence in biochemically atypical ceftazidime-resistant enterobacteriaceae from paediatric patients. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(4), 584-91. Retrieved from <https://search.proquest.com/docview/217662605?accountid=36765>
2. **PROQUEST:** Escherichia coli; studies from university of zurich yield new data on escherichia coli. (2012). *Obesity, Fitness & Wellness Week*, 635. Retrieved from <https://search.proquest.com/docview/924111717?accountid=36765>
3. **PROQUEST:** Gude, M. J., Seral, C., Sáenz, Y., González-domínguez, M., Torres, C., & Castillo, F. J. (2012). Evaluation of four phenotypic methods to detect plasmid-mediated AmpC beta]-lactamases in clinical isolates. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 31(8), 2037-43. doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s10096-011-1537-y>

4. **PROQUEST:** Khari, F. I., Karunakaran, R., Rosli, R., & Tay, S. T. (2016). Genotypic and phenotypic detection of AmpC beta]-lactamases in enterobacter spp. isolated from a teaching hospital in malaysia. PLoS One, 11(3) doi:<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150643>
5. **PROQUEST:** Mammeri, H., Poirel, L., & Nordmann, P. (2007). Extension of the hydrolysis spectrum of AmpC beta]-lactamase of escherichia coli due to amino acid insertion in the H-10 helix. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 60(3), 490-4. doi:<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm227>
6. **PROQUEST:** ørgensen, R. L., Nielsen, J. B., Friis-Møller, A., Fjeldsøe-Nielsen, H., & Schønning, K. (2010). Prevalence and molecular characterization of clinical isolates of escherichia coli expressing an AmpC phenotype. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 65(3), 460. Retrieved from <https://search.proquest.com/docview/217666738?accountid=36765>
7. **PROQUEST:** Shayan, S., Bokaeian, M., & Shahraki, S. (2014). Prevalence and molecular characterization of AmpC-producing clinical isolates of escherichia coli from southeastern iran. Microbial Drug Resistance, 20(2), 104-7. doi:<http://dx.doi.org/10.1089/mdr.2013.0087>
8. **PROQUEST:** Stéphane Corvec, Adèle Prodhomme, Cécile Giraudeau, Dauvergne, S., Reynaud, A., & Caroff, N. (2007). Most escherichia coli strains overproducing chromosomal AmpC beta]-lactamase belong to phylogenetic group A. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 60(4), 872-6. doi:<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm284>

ANEXOS

Tabla N° 13. Resultados del Gram de gota fresca, urocultivo y pruebas bioquímicas para la detección de *Escherichia coli*.

CÓDIGO	EDAD	SEXO	GRAM DE GOTTA FRESCA	UROCULTIVO	CITRATO	TSI	UREA	ROJO DE METILO	VOGES PROSKAUER	SIM	GERMEN IDENTIFICADO
1	51	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
2	60	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
3	33	Femenino	Bacilo Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
4	05	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
5	06	Femenino	Bacilo Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
6	67	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
7	60	Femenino	Bacilo Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
8	77	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
9	57	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
10	71	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
11	01	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
12	57	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
13	79	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
14	35	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
15	08	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>

16	44	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
17	43	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
18	17	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
19	38	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
20	68	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
21	70	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
22	50	Masculino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
23	71	Masculino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
24	21	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
25	78	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
26	05	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
27	24	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
28	18	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
29	34	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
30	21	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
31	60	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
32	21	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
33	30	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>

34	40	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
35	32	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
36	35	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
37	51	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
38	28	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
39	36	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>
40	32	Femenino	Bacilos Gram (-)	Positivo	Negativo	A/A Gas (+) H ₂ S (-)	Negativo	Positivo	Negativo	Indol (+) Motilidad (+)	<i>Escherichia coli</i>

Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

NOMENCLATURA






-  Muestras de orina donde se identificó *Escherichia coli*.
-  Muestras de orina que corresponden a pacientes de sexo femenino.
-  Muestras de orina que corresponden a pacientes de sexo masculino.
-  Betalactamasas de Espectro Extendido.
-  Betalactamasas tipo AmpC.

Tabla N° 14. DOCUMENTO CLSI M100 2017 27th EDICIÓN.

Zonas de diámetro y puntos de corte para la concentración mínima inhibitoria para *Enterobacteriaceae*.

<p>Testing Conditions</p> <p>Medium: Disk diffusion: MHA Broth dilution: CAMHB Agar dilution: MHA</p> <p>Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard</p> <p>Incubation: 35°C ± 2°C; ambient air Disk diffusion: 16–18 hours Dilution methods: 16–20 hours</p>	<p>Routine QC Recommendations (See Tables 4A and 5A for acceptable QC ranges.)</p> <p><i>Escherichia coli</i> ATCC®* 25922 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853 (for carbapenems) <i>Escherichia coli</i> ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)</p> <p>When a commercial test system is used for susceptibility testing, refer to the manufacturer's instructions for QC test recommendations and QC ranges.</p>
---	--

* ATCC® is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

Refer to Tables 3A, 3B, 3C, and 3D for additional testing, reporting, and QC for *Enterobacteriaceae*.

General Comments

- (1) For disk diffusion, test a maximum of 12 disks on a 150-mm plate and no more than 6 disks on a 100-mm plate; disks should be placed no less than 24 mm apart, center to center (see M02-A12, Subchapter 3.6). Each zone diameter should be clearly measurable; overlapping zones prevent accurate measurement. Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the Petri plate a few inches above a black background illuminated with reflected light. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. Strains of *Proteus* spp. may swarm into areas of inhibited growth around certain antimicrobial agents. With *Proteus* spp., ignore the thin veil of swarming growth in an otherwise obvious zone of growth inhibition. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter.
- (2) When fecal isolates of *Salmonella* and *Shigella* spp. are tested, only ampicillin, a fluoroquinolone, and trimethoprim-sulfamethoxazole should be reported routinely. In addition, for extraintestinal isolates of *Salmonella* spp., a third-generation cephalosporin should be tested and reported, and chloramphenicol may be tested and reported if requested. Susceptibility testing is indicated for typhoidal *Salmonella* (*S. Typhi* and *Salmonella* Paratyphi A–C) isolated from extraintestinal and intestinal sources. Routine susceptibility testing is not indicated for nontyphoidal *Salmonella* spp. isolated from intestinal sources. In contrast, susceptibility testing is indicated for all *Shigella* isolates.
- (3) The dosage regimens shown in the comments column below are those needed to achieve plasma drug exposures (in adults with normal renal and hepatic functions) on which breakpoints were based. When implementing new breakpoints, it is strongly recommended that laboratories share this information with infectious diseases practitioners, pharmacists, pharmacy and therapeutics committees, and infection control committees.

NOTE: Information in boldface type is new or modified since the previous edition.

Tabla N° 14. (Continuación).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)				Interpretive Categories and MIC Breakpoints (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
PENICILLINS											
A	Ampicillin	10 µg	≥17	–	14–16	≤13	≤8	–	16	≥32	(4) Results of ampicillin testing can be used to predict results for amoxicillin. See general comment (2).
O	Piperacillin	100 µg	≥21	–	18–20	≤17	≤16	–	32–64	≥128	
O	Mecillinam	10 µg	≥15	–	12–14	≤11	≤8	–	16	≥32	(5) For testing and reporting of <i>E. coli</i> urinary tract isolates only.
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS											
B	Amoxicillin-clavulanate	20/10 µg	≥18	–	14–17	≤13	≤8/4	–	16/8	≥32/16	
B	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥15	–	12–14	≤11	≤8/4	–	16/8	≥32/16	
B	Ceftolozane-tazobactam	–	–	–	–	–	≤2/4	–	4/4	≥8/4	(6) Breakpoints are based on a dosage regimen of 1.5 g every 8 h.
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥21	–	18–20	≤17	≤16/4	–	32/4–64/4	≥128/4	
O	Ticarcillin-clavulanate	75/10 µg	≥20	–	15–19	≤14	≤16/2	–	32/2–64/2	≥128/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)											
<p>(7) WARNING: For <i>Salmonella</i> spp. and <i>Shigella</i> spp., first- and second-generation cephalosporins and cephamycins may appear active <i>in vitro</i>, but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.</p> <p>(8) Following evaluation of PK-PD properties, limited clinical data, and MIC distributions, revised breakpoints for cephalosporins (cefazolin, cefotaxime, ceftazidime, ceftizoxime, and ceftriaxone) and aztreonam were first published in January 2010 (M100-S20) and are listed in this table. Cefuroxime (parenteral) was also evaluated; however, no change in breakpoints was necessary for the dosage indicated below. When using the current breakpoints, routine ESBL testing is no longer necessary before reporting results (ie, it is no longer necessary to edit results for cephalosporins, aztreonam, or penicillins from susceptible to resistant). However, ESBL testing may still be useful for epidemiological or infection control purposes. For laboratories that have not implemented the current breakpoints, ESBL testing should be performed as described in Table 3A.</p> <p>Note that breakpoints for drugs with limited availability in many countries (eg, moxalactam, cefonicid, cefamandole, and cefoperazone) were not evaluated. If considering use of these drugs for <i>E. coli</i>, <i>Klebsiella</i>, or <i>Proteus</i> spp., ESBL testing should be performed (see Table 3A). If isolates test ESBL positive, the results for moxalactam, cefonicid, cefamandole, and cefoperazone should be reported as resistant.</p> <p>(9) <i>Enterobacter</i>, <i>Citrobacter</i>, and <i>Serratia</i> may develop resistance during prolonged therapy with third-generation cephalosporins as a result of derepression of AmpC β-lactamase. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within 3 to 4 days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.</p>											
A	Cefazolin	30 µg	≥23	–	20–22	≤19	≤2	–	4	≥8	(10) Breakpoints when cefazolin is used for therapy of infections other than uncomplicated UTIs due to <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , and <i>P. mirabilis</i> . Breakpoints are based on a dosage regimen of 2 g every 8 h. See comment (8).

Tabla N° 14. (Continuación).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)				Interpretive Categories and MIC Breakpoints (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) (Continued)											
U	Cefazolin	30 µg	≥ 15	–	–	≤ 14	≤ 16	–	–	≥ 32	(11) Breakpoints when cefazolin is used for therapy of uncomplicated UTIs due to <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , and <i>P. mirabilis</i> . Breakpoints are based on a dosage regimen of 1 g every 12 h. See additional information below under CEPHEMS (ORAL).
C	Ceftaroline	30 µg	≥ 23	–	20–22	≤ 19	≤ 0.5	–	1	≥ 2	(12) Breakpoints are based on a dosage regimen of 600 mg every 12 h.
B	Cefepime	30 µg	≥ 25	19–24	–	≤ 18	≤ 2	4–8	–	≥ 16	(13) The breakpoint for susceptible is based on a dosage regimen of 1 g every 12 h. The breakpoint for SDD is based on dosing regimens that result in higher cefepime exposure, either higher doses or more frequent doses or both, up to approved maximum dosing regimens. See Appendix E for more information about breakpoints and dosing regimens. Also see the definition of SDD in the Instructions for Use of Tables section.
B	Cefotaxime or ceftriaxone	30 µg	≥ 26	–	23–25	≤ 22	≤ 1	–	2	≥ 4	(14) Breakpoints are based on a dosage regimen of 1 g every 24 h for ceftriaxone and 1 g every 8 h for cefotaxime. See comment (8).
B		30 µg	≥ 23	–	20–22	≤ 19	≤ 1	–	2	≥ 4	
B	Cefotetan	30 µg	≥ 16	–	13–15	≤ 12	≤ 16	–	32	≥ 64	
B	Cefoxitin	30 µg	≥ 18	–	15–17	≤ 14	≤ 8	–	16	≥ 32	(15) Breakpoints are based on a dosage regimen of at least 8 g per day (eg, 2 g every 6 h).
B	Cefuroxime (parenteral)	30 µg	≥ 18	–	15–17	≤ 14	≤ 8	–	16	≥ 32	(16) Breakpoints are based on a dosage regimen of 1.5 g every 8 h. See comment (8).
C	Ceftazidime	30 µg	≥ 21	–	18–20	≤ 17	≤ 4	–	8	≥ 16	(17) Breakpoints are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h. See comment (8).
O	Cefamandole	30 µg	≥ 18	–	15–17	≤ 14	≤ 8	–	16	≥ 32	See comment (8).
O	Cefmetazole	30 µg	≥ 16	–	13–15	≤ 12	≤ 16	–	32	≥ 64	(18) Insufficient new data exist to reevaluate breakpoints listed here.

Tabla N° 14. (Continuación).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)				Interpretive Categories and MIC Breakpoints (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) (Continued)											
O	Cefonicid	30 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤8	–	16	≥32	See comment (8).
O	Cefoperazone	75 µg	≥21	–	16–20	≤15	≤16	–	32	≥64	See comment (8).
O	Ceftizoxime	30 µg	≥25	–	22–24	≤21	≤1	–	2	≥4	(19) Breakpoints are based on a dosage regimen of 1 g every 12 h. See comment (8).
O	Moxalactam	30 µg	≥23	–	15–22	≤14	≤8	–	16–32	≥64	See comment (8).
CEPHEMS (ORAL)											
B	Cefuroxime	30 µg	≥23	–	15–22	≤14	≤4	–	8–16	≥32	See comment (20).
U	Cefazolin (surrogate test for oral cephalosporins and uncomplicated UTI)	30 µg	≥15	–	–	≤14	≤16	–	–	≥32	(20) Breakpoints are for cefazolin when cefazolin results are used to predict results for the oral agents cefaclor, cefdinir, cefpodoxime, cefprozil, cefuroxime, cephalixin, and loracarbef when used for therapy of uncomplicated UTIs due to <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , and <i>P. mirabilis</i> . Cefdinir, cefpodoxime, and cefuroxime may be tested individually because some isolates may be susceptible to these agents while testing resistant to cefazolin.
O	Loracarbef	30 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤8	–	16	≥32	(21) Do not test <i>Citrobacter</i> , <i>Providencia</i> , or <i>Enterobacter</i> spp. with cefdinir or loracarbef by disk diffusion because false-susceptible results have been reported. See comment (20).
O	Cefaclor	30 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤8	–	16	≥32	See comment (20).
O	Cefdinir	5 µg	≥20	–	17–19	≤16	≤1	–	2	≥4	See comments (20) and (21).
O	Cefixime	5 µg	≥19	–	16–18	≤15	≤1	–	2	≥4	(22) Do not test <i>Morganella</i> spp. with cefixime, cefpodoxime, or cefetamet by disk diffusion.
O	Cefpodoxime	10 µg	≥21	–	18–20	≤17	≤2	–	4	≥8	See comments (20) and (22).
O	Cefprozil	30 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤8	–	16	≥32	(23) Do not test <i>Providencia</i> spp. with cefprozil by disk diffusion because false-susceptible results have been reported. See comment (20).
Inv.	Cefetamet	10 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤4	–	8	≥16	See comment (22).
Inv.	Ceftibuten	30 µg	≥21	–	18–20	≤17	≤8	–	16	≥32	(24) For testing and reporting of urinary tract isolates only.

Tabla N° 14. (Continuación).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)				Interpretive Categories and MIC Breakpoints (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
MONOBACTAMS											
C	Aztreonam	30 µg	≥21	–	18–20	≤17	≤4	–	8	≥16	(25) Breakpoints are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h. See comment (8).
CARBAPENEMS											
<p>(26) Following evaluation of PK-PD properties, limited clinical data, and MIC distributions that include recently described carbapenemase-producing strains, revised breakpoints for carbapenems were first published in June 2010 (M100-S20-U) and are listed below. Because of limited treatment options for infections caused by organisms with carbapenem MICs or zone diameters in the intermediate range, clinicians may wish to design carbapenem dosage regimens that use maximum recommended doses and possibly prolonged intravenous infusion regimens, as has been reported in the literature.¹⁴ Consultation with an infectious diseases practitioner is recommended for isolates for which the carbapenem MICs or zone diameter results from disk diffusion testing are in the intermediate or resistant ranges.</p> <p>Laboratories using <i>Enterobacteriaceae</i> MIC breakpoints for carbapenems described in M100-S20 (January 2010) should perform the MHT, the Carba NP test, mCIM, and/or a molecular assay when isolates of <i>Enterobacteriaceae</i> are suspicious for carbapenemase production based on imipenem or meropenem MICs of 2–4 µg/mL or ertapenem MIC of 2 µg/mL (refer to Tables 3B, 3C, and 3D). After implementation of the current breakpoints, these additional tests do not need to be performed other than for epidemiological or infection control purposes (refer to Table 3B).</p> <p>The following information is provided as background on carbapenemases in <i>Enterobacteriaceae</i> that are largely responsible for MICs and zone diameters in the intermediate and resistant ranges, and thus the rationale for setting revised carbapenem breakpoints:</p> <ul style="list-style-type: none"> The clinical effectiveness of carbapenem treatment of infections produced by isolates for which the carbapenem MIC or disk diffusion test results are within the intermediate range is uncertain due to lack of controlled clinical studies. <p>Imipenem MICs for <i>Proteus</i> spp., <i>Providencia</i> spp., and <i>Morganella morganii</i> tend to be higher (eg, MICs in the intermediate or resistant range) than meropenem or doripenem MICs. These isolates may have elevated imipenem MICs by mechanisms other than production of carbapenemases.</p>											
B	Doripenem	10 µg	≥23	–	20–22	≤19	≤1	–	2	≥4	(27) Breakpoints are based on a dosage regimen of 500 mg every 8 h.
B	Ertapenem	10 µg	≥22	–	19–21	≤18	≤0.5	–	1	≥2	(28) Breakpoints are based on a dosage regimen of 1 g every 24 h.
B	Imipenem	10 µg	≥23	–	20–22	≤19	≤1	–	2	≥4	(29) Breakpoints are based on a dosage regimen of 500 mg every 6 h or 1 g every 8 h.
B	Meropenem	10 µg	≥23	–	20–22	≤19	≤1	–	2	≥4	(30) Breakpoints are based on a dosage regimen of 1 g every 8 h.
AMINOGLYCOSIDES											
(31) WARNING: For <i>Salmonella</i> spp. and <i>Shigella</i> spp., aminoglycosides may appear active <i>in vitro</i> but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.											
A	Gentamicin	10 µg	≥15	–	13–14	≤12	≤4	–	8	≥16	
A	Tobramycin	10 µg	≥15	–	13–14	≤12	≤4	–	8	≥16	
B	Amikacin	30 µg	≥17	–	15–16	≤14	≤16	–	32	≥64	
O	Kanamycin	30 µg	≥18	–	14–17	≤13	≤16	–	32	≥64	

Tabla N° 14. (Continuación).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)				Interpretive Categories and MIC Breakpoints (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
AMINOGLYCOSIDES (Continued)											
O	Netilmicin	30 µg	≥15	–	13–14	≤12	≤8	–	16	≥32	
O	Streptomycin	10 µg	≥15	–	12–14	≤11	–	–	–	–	(32) There are no MIC interpretive standards.
MACROLIDES											
Inv.	Azithromycin	15 µg	≥13	–	–	≤12	≤16	–	–	≥32	(33) <i>Salmonella</i> Typhi only: breakpoints are based on MIC distribution data and limited clinical data. For <i>Shigella flexneri</i> and <i>Shigella sonnei</i> see Table 2A-2.
TETRACYCLINES											
(34) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline, minocycline, or both.											
C	Tetracycline	30 µg	≥15	–	12–14	≤11	≤4	–	8	≥16	
O	Doxycycline	30 µg	≥14	–	11–13	≤10	≤4	–	8	≥16	
O	Minocycline	30 µg	≥16	–	13–15	≤12	≤4	–	8	≥16	
QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for <i>Enterobacteriaceae</i> except <i>Salmonella</i> spp. (Please refer to Glossary I.)											
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥21	–	16–20	≤15	≤1	–	2	≥4	
B	Levofloxacin	5 µg	≥17	–	14–16	≤13	≤2	–	4	≥8	
O	Cinoxacin	100 µg	≥19	–	15–18	≤14	≤16	–	32	≥64	See comment (24).
O	Enoxacin	10 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤2	–	4	≥8	See comment (24).
O	Gatifloxacin	5 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤2	–	4	≥8	See comment (24).
O	Gemifloxacin	5 µg	≥20	–	16–19	≤15	≤0.25	–	0.5	≥1	(35) FDA-approved for <i>Klebsiella pneumoniae</i> .
O	Grepafloxacin	5 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤1	–	2	≥4	
O	Lomefloxacin	10 µg	≥22	–	19–21	≤18	≤2	–	4	≥8	
O	Nalidixic acid	30 µg	≥19	–	14–18	≤13	≤16	–	–	≥32	See comment (24).
O	Norfloracin	10 µg	≥17	–	13–16	≤12	≤4	–	8	≥16	See comment (24).
O	Ofloxacin	5 µg	≥16	–	13–15	≤12	≤2	–	4	≥8	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥19	–	16–18	≤15	≤2	–	4	≥8	
QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for <i>Salmonella</i> spp. (Please refer to Glossary I.)											
(36) For testing and reporting of <i>Salmonella</i> spp. (including <i>S. Typhi</i> and <i>S. Paratyphi A–C</i>). Routine susceptibility testing is not indicated for nontyphoidal <i>Salmonella</i> spp. isolated from intestinal sources.											
(37) The preferred test for assessing fluoroquinolone susceptibility or resistance in <i>Salmonella</i> spp. is a ciprofloxacin MIC test. A levofloxacin or ofloxacin MIC test can be performed if either agent, respectively, is the fluoroquinolone of choice in a specific facility. If a ciprofloxacin, levofloxacin, or ofloxacin MIC or ciprofloxacin disk diffusion test cannot be done, pefloxacin disk diffusion may be used as surrogate test to predict ciprofloxacin susceptibility.											
(38) No single test detects resistance resulting from all possible fluoroquinolone resistance mechanisms that have been identified in <i>Salmonella</i> spp.											

Tabla N° 14. (Continuación).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)				Interpretive Categories and MIC Breakpoints (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for <i>Salmonella</i> spp. (Please refer to Glossary I.) (Continued)											
B B	Ciprofloxacin Levofloxacin	5 µg –	≥31 –	– –	21–30 –	≤20 –	≤0.06 ≤0.12	– –	0.12–0.5 0.25–1	≥1 ≥2	(39) Isolates of <i>Salmonella</i> spp. that test not susceptible to ciprofloxacin, levofloxacin, ofloxacin, or pefloxacin may be associated with clinical failure or delayed response in fluoroquinolone-treated patients with salmonellosis.
O	Ofloxacin	–	–	–	–	–	≤0.12	–	0.25–1	≥2	
Inv.	Pefloxacin (surrogate test for ciprofloxacin)	5 µg	≥24	–	–	≤23	–	–	–	–	(40) Report results as ciprofloxacin susceptible or resistant based on the pefloxacin test result. Pefloxacin will not detect resistance in <i>Salmonella</i> spp. due to <i>aac(6′)-Ib-cr</i> . Pefloxacin disks are not available in the United States. See Comment (38)
FOLATE PATHWAY INHIBITORS											
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/ 23.75 µg	≥16	–	11–15	≤10	≤2/38	–	–	≥4/76	See general comment (2).
U	Sulfonamides	250 or 300 µg	≥17	–	13–16	≤12	≤256	–	–	≥512	(41) Sulfisoxazole can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
U	Trimethoprim	5 µg	≥16	–	11–15	≤10	≤8	–	–	≥16	
PHENICOLS											
C	Chloramphenicol	30 µg	≥18	–	13–17	≤12	≤8	–	16	≥32	(42) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
FOSFOMYCINS											
U	Fosfomicin	200 µg	≥16	–	13–15	≤12	≤64	–	128	≥256	(43) For testing and reporting of <i>E. coli</i> urinary tract isolates only. (44) The 200-µg fosfomicin disk contains 50 µg of glucose-6-phosphate. (45) The only approved MIC method for testing is agar dilution using agar media supplemented with 25 µg/mL of glucose-6-phosphate. Broth dilution MIC testing should not be performed.

Tabla N° 14. (Continuación).

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)				Interpretive Categories and MIC Breakpoints (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
NITROFURANS											
U	Nitrofurantoin	300 µg	≥17	–	15–16	≤14	≤32	–	64	≥128	

Abbreviations: ATCC®, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; ESBL, extended-spectrum β-lactamase; I, intermediate; **mCIM, modified carbapenem inactivation method**; MHA, Mueller-Hinton agar; MHT, modified Hodge test; MIC, minimal inhibitory concentration; PK-PD, pharmacokinetic-pharmacodynamic; QC, quality control; R, resistant; S, susceptible; SDD, susceptible-dose dependent; UTI, urinary tract infection.

Fuente: (107)

Tabla N° 14. Pruebas para Betalactamasas de Espectro Extendido en *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*.

Test	Criteria for Performance of ESBL Test		ESBL Test	
Test Method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
Medium	MHA	CAMHB	MHA	CAMHB
Antimicrobial Concentration	<p>For <i>K. pneumoniae</i>, <i>K. oxytoca</i>, and <i>E. coli</i>:</p> <p>Cefpodoxime 10 µg or Ceftazidime 30 µg or Aztreonam 30 µg or Cefotaxime 30 µg or Ceftriaxone 30 µg</p> <p>For <i>P. mirabilis</i>:</p> <p>Cefpodoxime 10 µg or Ceftazidime 30 µg or Cefotaxime 30 µg</p> <p>(The use of more than one antimicrobial agent improves the sensitivity of ESBL detection.)</p>	<p>For <i>K. pneumoniae</i>, <i>K. oxytoca</i>, and <i>E. coli</i>:</p> <p>Cefpodoxime 4 µg/mL or Ceftazidime 1 µg/mL or Aztreonam 1 µg/mL or Cefotaxime 1 µg/mL or Ceftriaxone 1 µg/mL</p> <p>For <i>P. mirabilis</i>:</p> <p>Cefpodoxime 1 µg/mL or Ceftazidime 1 µg/mL or Cefotaxime 1 µg/mL</p> <p>(The use of more than one antimicrobial agent improves the sensitivity of ESBL detection.)</p>	<p>Ceftazidime 30 µg Ceftazidime-clavulanate^a 30/10 µg</p> <p><u>and</u></p> <p>Cefotaxime 30 µg Cefotaxime-clavulanate 30/10 µg</p> <p>(Testing necessitates use of both cefotaxime and ceftazidime, alone and in combination with clavulanate.)</p>	<p>Ceftazidime 0.25–128 µg/mL Ceftazidime-clavulanate 0.25/4–128/4 µg/mL</p> <p><u>and</u></p> <p>Cefotaxime 0.25–64 µg/mL Cefotaxime-clavulanate 0.25/4–64/4 µg/mL</p> <p>(Testing necessitates use of both cefotaxime and ceftazidime, alone and in combination with clavulanate.)</p>
Inoculum	Standard disk diffusion procedure	Standard broth dilution procedure	Standard disk diffusion procedure	Standard broth dilution procedure
Incubation Conditions	35°C±2°C; ambient air	35°C±2°C; ambient air	35°C±2°C; ambient air	35°C±2°C; ambient air
Incubation Length	16–18 hours	16–20 hours	16–18 hours	16–20 hours

Tabla N° 14. (Continuación).

Test	Criteria for Performance of ESBL Test		ESBL Test	
Test Method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
Results	<p>For <i>K. pneumoniae</i>, <i>K. oxytoca</i>, and <i>E. coli</i>:</p> <p>Cefpodoxime zone ≤ 17 mm Ceftazidime zone ≤ 22 mm Aztreonam zone ≤ 27 mm Cefotaxime zone ≤ 27 mm Ceftriaxone zone ≤ 25 mm</p> <p>For <i>P. mirabilis</i>:</p> <p>Cefpodoxime zone ≤ 22 mm Ceftazidime zone ≤ 22 mm Cefotaxime zone ≤ 27 mm</p> <p>Zones above may indicate ESBL production.</p>	<p>Growth at or above the concentrations listed may indicate ESBL production (ie, for <i>E. coli</i>, <i>K. pneumoniae</i>, and <i>K. oxytoca</i>, MIC ≥ 8 µg/mL for cefpodoxime or MIC ≥ 2 µg/mL for ceftazidime, aztreonam, cefotaxime, or ceftriaxone; and for <i>P. mirabilis</i>, MIC ≥ 2 µg/mL for cefpodoxime, ceftazidime, or cefotaxime).</p>	<p>A ≥ 5-mm increase in a zone diameter for either antimicrobial agent tested in combination with clavulanate vs the zone diameter of the agent when tested alone = ESBL (eg, ceftazidime zone = 16; ceftazidime-clavulanate zone = 21).</p>	<p>A ≥ 3 twofold concentration decrease in an MIC for either antimicrobial agent tested in combination with clavulanate vs the MIC of the agent when tested alone = ESBL (eg, ceftazidime MIC = 8 µg/mL; ceftazidime-clavulanate MIC = 1 µg/mL).</p>
Reporting			<p>For all confirmed ESBL-producing strains:</p> <p>If laboratories do not use current cephalosporin and aztreonam breakpoints, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam.</p> <p>If laboratories use current cephalosporin and aztreonam breakpoints, then test interpretations for these agents do not need to be changed from susceptible to resistant.</p>	

Tabla N° 14. (Continuación).

Test	Criteria for Performance of ESBL Test		ESBL Test	
Test Method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
QC Recommendations	<p>When testing antimicrobial agents used for ESBL detection, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 is provided as a supplemental QC strain (eg, for training, competence assessment, or test evaluation). Either strain, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 or <i>E. coli</i> ATCC® 25922, may then be used for routine QC (eg, weekly or daily).</p> <p><i>E. coli</i> ATCC® 25922 (see acceptable QC ranges in Table 4A)</p> <p><i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603: Cefpodoxime zone 9–16 mm Ceftazidime zone 10–18 mm Aztreonam zone 9–17 mm Cefotaxime zone 17–25 mm Ceftriaxone zone 16–24 mm</p>	<p>When testing antimicrobial agents used for ESBL detection, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 is provided as a supplemental QC strain (eg, for training, competence assessment, or test evaluation). Either strain, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 or <i>E. coli</i> ATCC® 25922, may then be used for routine QC (eg, weekly or daily).</p> <p><i>E. coli</i> ATCC® 25922 = No growth (see acceptable QC ranges listed in Table 5A)</p> <p><i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 = Growth: Cefpodoxime MIC ≥ 8 µg/mL Ceftazidime MIC ≥ 2 µg/mL Aztreonam MIC ≥ 2 µg/mL Cefotaxime MIC ≥ 2 µg/mL Ceftriaxone MIC ≥ 2 µg/mL</p>	<p>When performing the ESBL test, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 and <i>E. coli</i> ATCC® 25922 should be used for routine QC (eg, weekly or daily).</p> <p>Acceptable QC: <i>E. coli</i> ATCC® 25922: ≤ 2-mm increase in zone diameter for antimicrobial agent tested in combination with clavulanate vs the zone diameter when tested alone.</p> <p><i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603: ≥ 5-mm increase in zone diameter of ceftazidime-clavulanate vs ceftazidime alone; ≥ 3-mm increase in zone diameter of cefotaxime-clavulanate vs cefotaxime alone.</p>	<p>When performing the ESBL test, <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 and <i>E. coli</i> ATCC® 25922 should be tested routinely (eg, weekly or daily).</p> <p>Acceptable QC: <i>E. coli</i> ATCC® 25922: < 3 twofold concentration decrease in MIC for antimicrobial agent tested in combination with clavulanate vs the MIC of the agent when tested alone.</p> <p><i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603: ≥ 3 twofold concentration decrease in MIC for an antimicrobial agent tested in combination with clavulanate vs the MIC of the agent when tested alone.</p>

Abbreviations: ATCC®, American Type Culture Collection; CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth; ESBL, extended-spectrum β-lactamase; MHA, Mueller-Hinton agar; MIC, minimal inhibitory concentration; PK-PD, pharmacokinetic-pharmacodynamic; QC, quality control.

Fuente: (107)

Fotografía N° 1. Agares para la preparación de los medios de cultivo.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 2. Discos de antibióticos para los antibiogramas.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

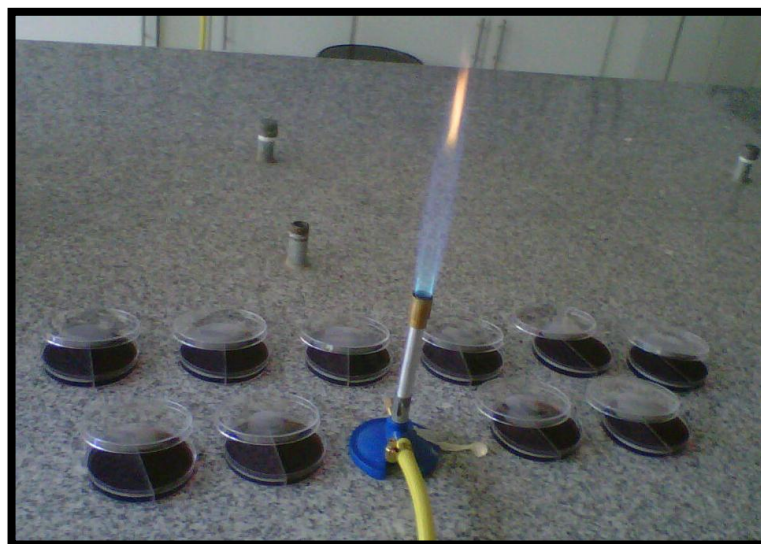
Fotografía N° 3. Esterilización de los medios.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 4. Distribución de los medios en las cajas Petri.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 5. Envasado de los medios en las cajas petri.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 6. Medios de cultivo listos en las cajas petri.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 7. Medios de cultivo y pruebas bioquímicas.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

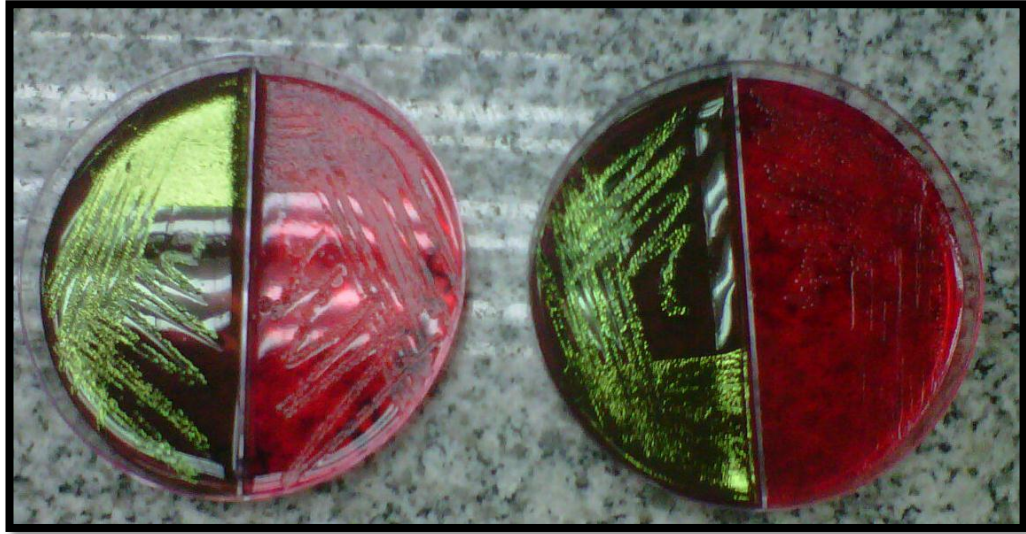
Fotografía N° 8. Colocación de las cajas Petri en la estufa.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

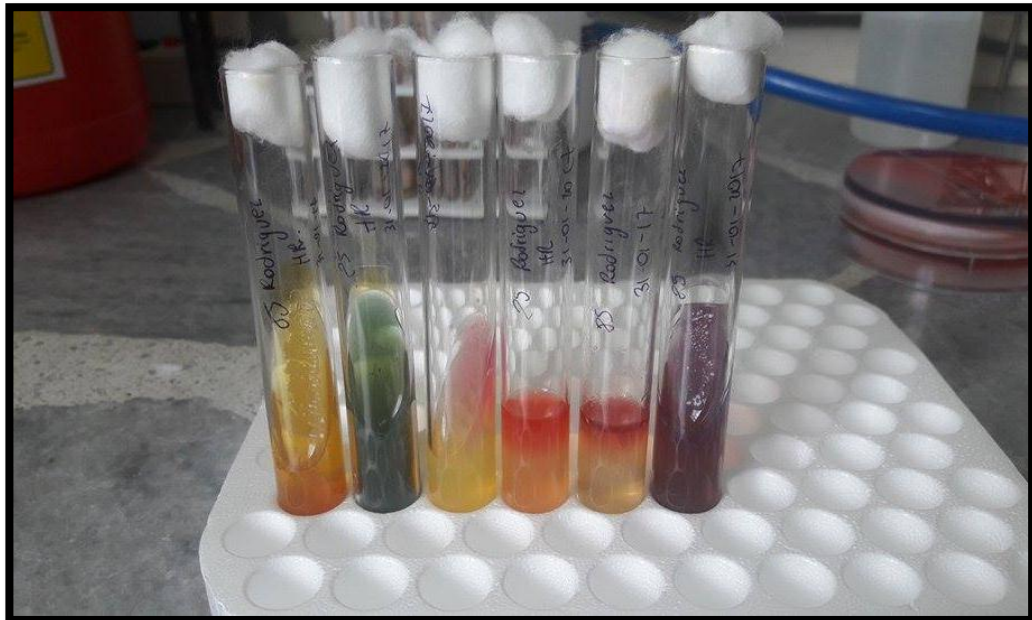
Fotografía N° 9. Colonias aisladas de *Escherichia coli*.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 10. Pruebas bioquímicas de *Escherichia coli*.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 11. Incubadora para las cajas Petri y pruebas bioquímicas.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 12. Control de la temperatura de la incubadora.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

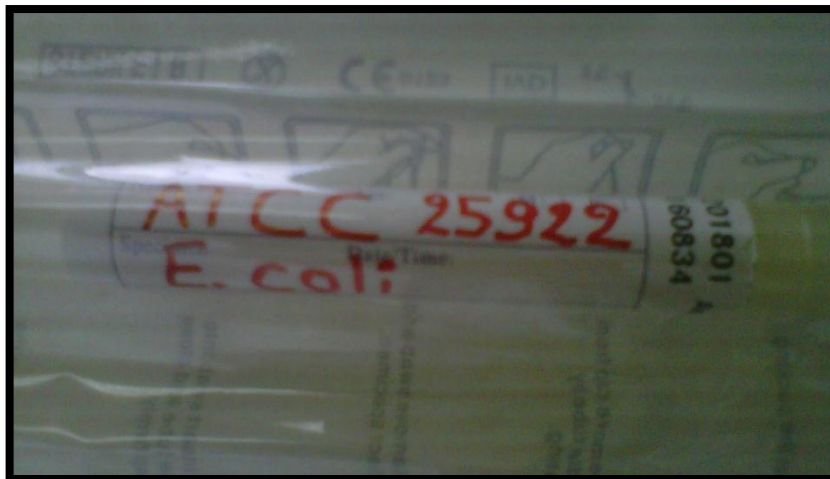
Fotografía N° 13. Cepa control de calidad *Escherichi coli* ATCC 25922 (Medio de cultivo).



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 14. Cepa control de calidad *Escherichi coli* ATCC 25922 (Medio Stuart).



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

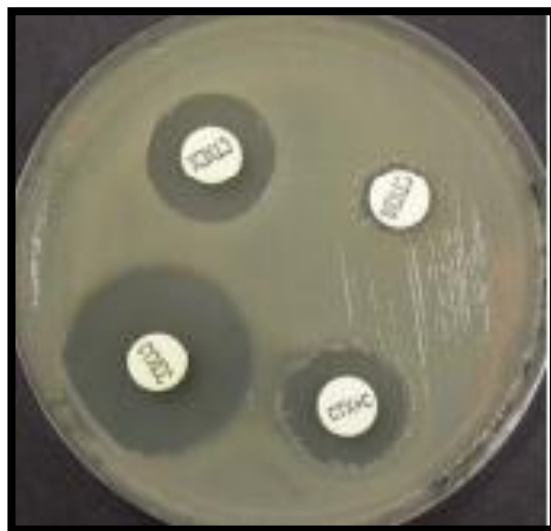
Fotografía N° 15. Cepa de *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de Espectro Extendido.



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 16. Cepa de *Escherichia coli* productora de Betalactamasas de Espectro Extendido. (Prueba confirmatoria propuesto por el CLSI).



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 17. Método de aproximación de discos.

Prueba positiva (Se observa un halo de inhibición truncado en el disco de piperacilina/tazobactam).

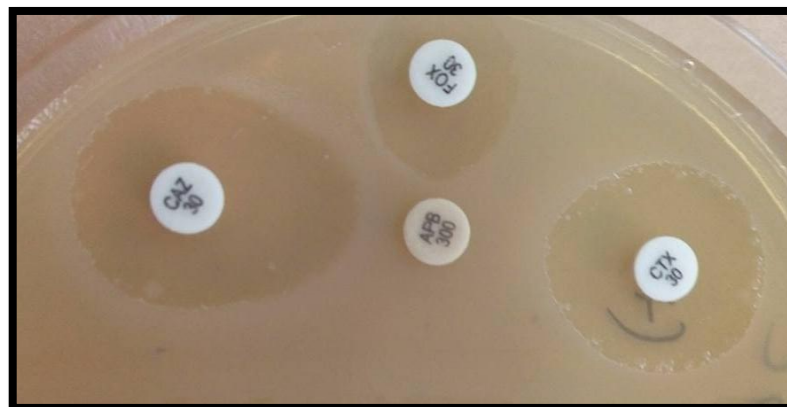


Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Fotografía N° 18. Método de sinergia de doble disco.

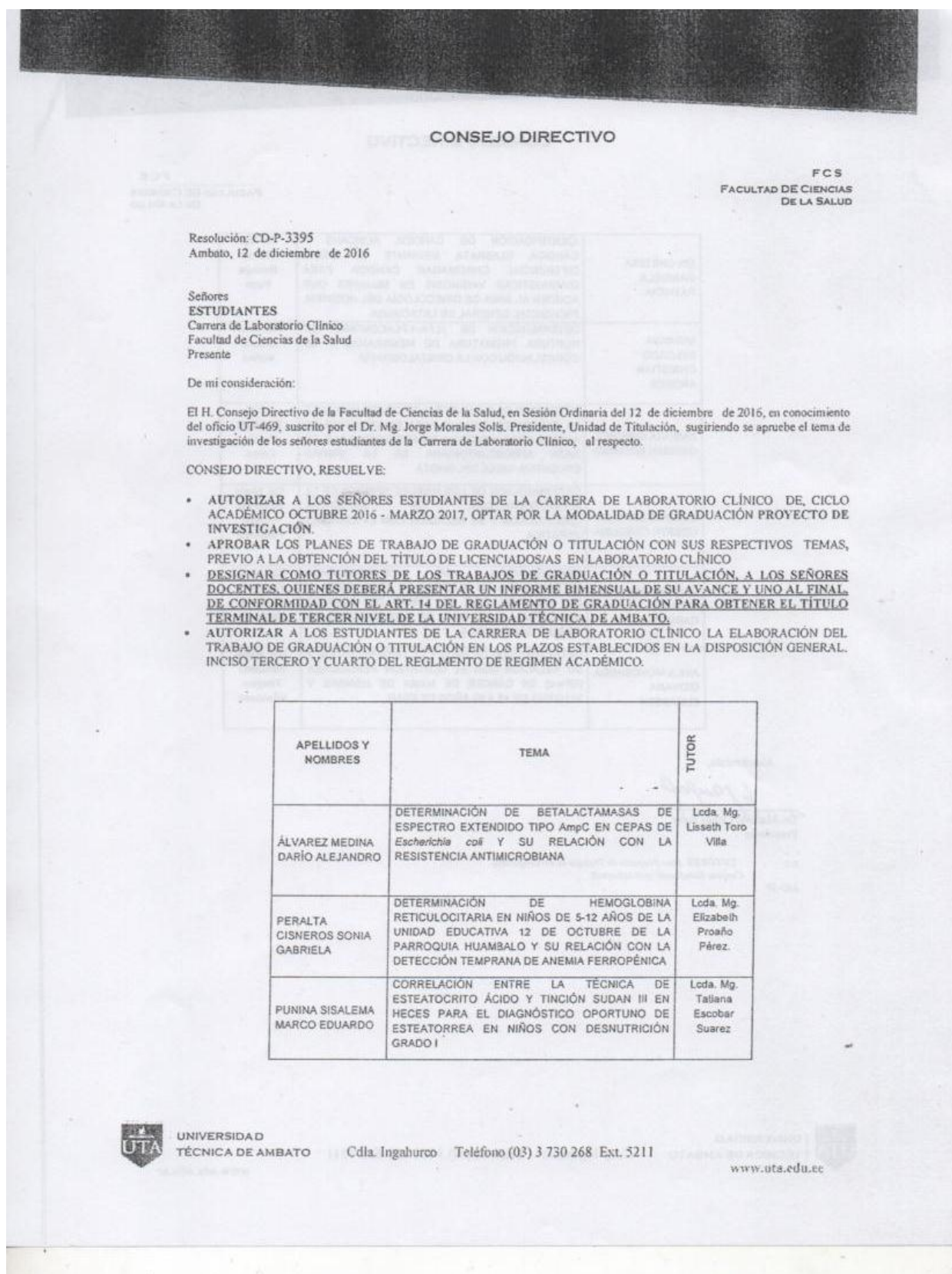
Prueba positiva (Se observa un aumento de los halos de inhibición de las cefalosporinas respecto al inhibidor).



Fuente: Datos del Laboratorio de Microbiología

Elaborado por: El Investigador

Anexo N° 1. Resolución aprobada por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud sugiriendo la aprobación del Tema de Investigación.



Anexo N° 2. Oficio dirigido a la Dra. Inés Guanopatín, Gerente del Hospital General Provincial de Latacunga para solicitar el permiso para la realización del Proyecto de Investigación.

LABORATORIO CLINICO

FCS
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

Ambato, 23 de enero de 2017
FCS-CLC-078-2017

Doctora
Inés Guanopatín Pacheco
GERENTE DEL HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DE LATACUNGA
Ciudad.-

HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL
DE LATACUNGA
SECRETARIA

RECEPCION DE DOCUMENTOS

FECHA 23/01/2017 Recepcion Inés 14h 58

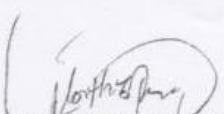
RECIBIDO


De mi consideración:


Yo, MARTHA RAMOS RAMÍREZ, con C.I. 180328220-9, en calidad de Coordinadora de la Carrera de Laboratorio Clínico, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Técnica de Ambato, me dirijo a usted de la manera más comedida para solicitarle el permiso pertinente para que el estudiante DARIO ALEJANDRO ÁLVAREZ MEDINA , con C.I. 1804627360, pueda realizar el Proyecto de Investigación con el tema: " **DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AmpC EN CEPAS DE *Escherichia coli* Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA**", en los pacientes que acuden al Laboratorio Clínico del Hospital Provincial General de Latacunga periodo febrero-marzo de 2017.

Por la favorable atención que se sirva a la presente, le reitero mis más sinceros agradecimientos.


Atentamente,



Bqf. Mg. Martha Ramos Ramírez
COORDINADORA LABORATORIO CLÍNICO



 UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE AMBATO
mss/ Cda. Ingahurco Teléfono (03) 3 730 268 Ext. 5209 fcs.labclinico@uta.edu.ec
www.uta.edu.ec

Anexo N° 3. Oficio de aceptación y autorización por parte de la Unidad de Docencia e Investigación del Hospital General Provincial de Latacunga para la realización del Proyecto de Investigación.

 **Ministerio de Salud Pública**
Coordinación Zonal 3 – Salud
Hospital Provincial General Latacunga



Oficio Nro. MSP-CZ3-HPGL-2017-0027-O
Latacunga, 23 de enero de 2017

Asunto: ACEPTACIÓN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DARIO ÁLVAREZ

Bioquímica
Martha Ramos Ramirez
Coordinadora Carrera de Laboratorio Clínico
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO-LABORATORIO CLÍNICO
En su Despacho

De mi consideración:



En atención al documento enviado a esta Gerencia mediante el cual solicita la autorización para que el señor DARIO ALEJANDRO ÁLVAREZ MEDINA, con cédula de ciudadanía N°. 1804627360, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Técnica de Ambato, pueda desarrollar el proyecto de investigación "DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AmpC EN CEPAS DE Escherichia coli Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA, en los pacientes que acuden al Laboratorio Clínico del Hospital Provincial General de Latacunga periodo febrero-marzo de 2017", y luego de haber sido analizada por la Unidad de Docencia e Investigación, se autoriza proceder con el desarrollo del proyecto.

Se recomienda concluido el proyecto, entregar un ejemplar en la institución.

Particular que pongo en su conocimiento para los fines pertinentes.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Documento firmado electrónicamente
Dra. Ines Alexandra Guanopatin Pacheco
GERENTE DEL HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DE LATACUNGA

Referencias:
- MSP-CZ3-HPGL-2017-0077-E

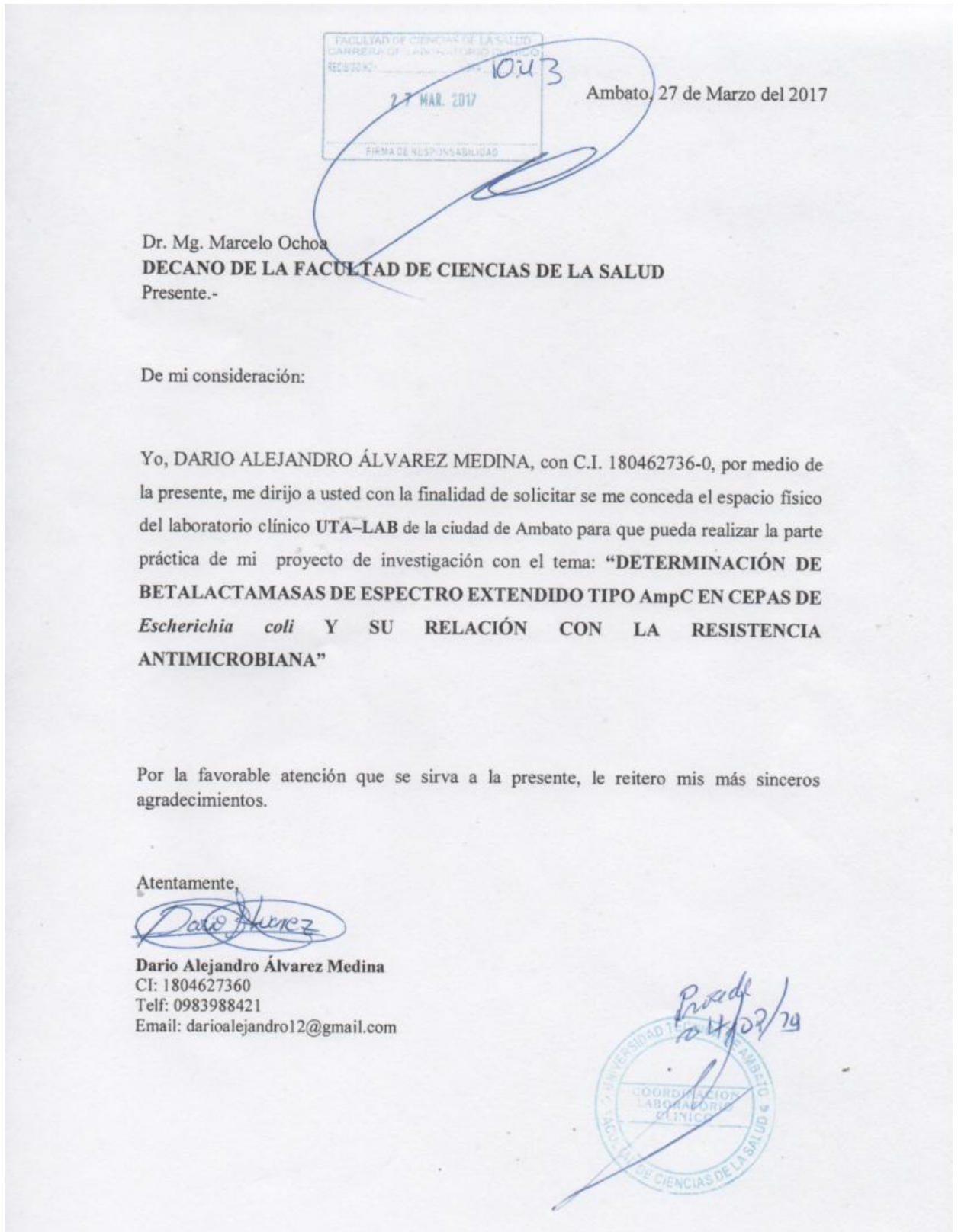
*autorizado
Dra. Angélica Gordón
26-01-2017 (10h46)*

LABORATORIO
Hospital Provincial General Latacunga
COORDINACIÓN

Hermanas Páez 1-02 y 2 de Mayo
Teléfonos: 593(3) 2813230- 2813231
www.msp.gob.ec – www.hpgl.gob.ec

1/2

Anexo N° 4. Oficio dirigido al Dr. Mg. Marcelo Ochoa, Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud para solicitar se conceda el espacio físico del Laboratorio Clínico UTA-LAB para la realización de la parte práctica del proyecto de Investigación.



Anexo N° 5. Certificado por parte de la Dra. María Augusta Escudero, responsable del Laboratorio Clínico del Hospital General Provincial de Latacunga de haber realizado el Proyecto de Investigación.



Latacunga, 10 de Mayo del 2017

CERTIFICADO

A petición verbal de la parte interesada, certifico que:

El señor **DARÍO ALEJANDRO ÁLVAREZ MEDINA** con C.I. 180462736-0, realizó la ejecución de su proyecto de investigación bajo el tema **“DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AmpC EN CEPAS DE *Escherichia coli* Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA”** en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Provincial General de Latacunga, durante los meses de Febrero - Marzo de 2017.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, pudiendo el interesado hacer uso del mismo como bien creyere conveniente.

Dra. María Augusta Escudero

RESPONSABLE LABORATORIO CLÍNICO HPGL

Dra. María Augusta Escudero A.
PATOLOGA CLINICA
171763594-8

LABORATORIO
Hospital Provincial General Latacunga
COORDINACION

Hermanas Páez 1-02 y 2 de Mayo
Teléfonos: 593(3) 2813230- 2813231
www.msp.gob.ec - www.hpjl.gob.ec

Anexo N° 6. Certificado por parte del Lic. Mg. Christian Sosa, responsable del Laboratorio Clínico UTA-LAB de haber realizado el Proyecto de Investigación.

Ambato, 20 de junio del 2017

CERTIFICADO

Certifico que el Sr. DARIO ALEJANDRO ALVAREZ MEDINA con C.I. 1804627360 egresado de la carrera de laboratorio clínico, acudió a realizar las pruebas en el desarrollo de su trabajo de investigación que consiste en "DETERMINACIÓN DE BETA LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AmpC EN CEPAS *Escherichia coli* Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA" en las siguientes fechas:

- Del lunes 3 de Abril al lunes 1 de Mayo de 2017

Es todo cuanto puedo certificar, pudiendo el señor estudiante hacer uso del presente documento como creyere conveniente.

Atentamente.


Lic. Cristian Sosa
Laboratorista FCS.



Anexo N° 7. Consentimiento informado para la participación en el Proyecto de Investigación.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO



CONSENTIMIENTO INFORMADO

INVESTIGACIÓN SOBRE:|

“DETERMINACIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO TIPO AmpC EN CEPAS DE *Escherichia coli* Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA”

La presente investigación es desarrollada por Darío Alejandro Álvarez Medina con C.I. 1804627360, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Técnica de Ambato. La investigación tiene como propósito determinar si existe o no relación entre las Betalactamasas de espectro extendido y las Betalactamasas tipo AmpC en cepas de *Escherichia coli* con la resistencia antimicrobiana. La participación de la investigación es estrictamente voluntaria y la información que se recoja será confidencial. De igual manera el o la participante tiene todo el derecho de retirarse de la investigación en cualquier momento.

Si usted acepta participar en este estudio, agradezco su conformidad por escrito completando y firmando el formulario.

He leído y comprendido la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se ha contestado satisfactoriamente las preguntas que se ha realizado. Consiento voluntariamente la participación de mí representando en esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que se me afecte de ninguna manera.

Nombre del representante.....

Edad del representante.....

Fecha.....

Nombre del representante que autoriza.....

Firma del representante.....

Numero de cedula de identidad del representante.....

Si el paciente es analfabeto debe firmar un testigo que sepa leer y escribir.

He sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento para el potencial participante y la persona ha tenido la oportunidad de hacer las preguntas.

Confirmando que la persona ha dado el consentimiento para participar en la presente investigación.

Nombre y firma del testigo.....

Firma del testigo.....

Cdla. Ingahurco Teléfono (03) 3730268 Ext. 5211

www.uta.edu.ec