



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**THE AMERICAN BRITISH COWDRAY  
MEDICAL CENTER, I.A.P.  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA**

**“RESISTENCIA ANTIMICROBIANA Y DETECCIÓN DE BETA-LACTAMASAS DE  
ESPECTRO EXTENDIDO EN AISLADOS CLÍNICOS DE INFECCIONES  
URINARIAS DE LA COMUNIDAD”**

**TESIS DE POSTGRADO  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:  
PATOLOGÍA CLÍNICA**

**PRESENTA:**

**DRA. VIRGINIA ARREGUÍN NAVA**

**ASESOR: DR. JESÚS IGNACIO SIMÓN DOMÍNGUEZ**

**CO-ASESOR: DRA. MIRIAM BOBADILLA DEL VALLE**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**MÉXICO, D.F. OCTUBRE DE 2007**

---

**DR. JOSÉ J. ELIZALDE GONZÁLEZ**  
**JEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN**

---

**DR JESÚS IGNACIO SIMÓN DOMÍNGUEZ**  
**PROFESOR TITULAR Y ASESOR**

---

**DRA. MIRIAM BOBADILLA DEL VALLE**  
**CO-ASESOR**

Esta tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Centro Médico ABC y en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”.

## **Agradecimientos**

A todo el personal del Banco de sangre y Laboratorio clínico, en especial del área de Microbiología, por ser parte importante de mi formación.

A la Dra. Miriam Bobadilla del Valle, a la química Araceli Hernández Cruz y al Dr. José Sifuentes Osornio del Instituto Nacional y Nutrición de Ciencias Médicas “Salvador Zubirán” por su ayuda y orientación en el desarrollo de esta tesis.

Al Departamento de Enseñanza por su ayuda en mi formación.

A mis compañeras residentes porque con su convivencia hicieron agradables los días de trabajo.

Al Dr. Pedro Álvarez Sánchez, por su amistad y orientación.

Al Dr. Luis Carlos Moreno por su interés y ayuda.

Al Dr. Jesús I. Simón Domínguez por sus enseñanzas.

## **Dedicatoria**

A mis padres, por darme su amor, ejemplo y apoyo incondicional.

A mi esposo, Alejandro, por su amor, paciencia y compañía.

A mis hermanos, Salud, Rocío y Sonia, por su permanente apoyo.

A mis padrinos, Julieta y Juan José, y a mi madrina Lupita por su interés.

# Índice

	<b>Página</b>
1. Introducción	1
2. Marco teórico	2
3. Justificación	6
4. Planteamiento del problema	6
5. Objetivos	7
6. Método	8
6.1. Tipo de estudio	8
6.2. Universo y muestra del estudio	8
6.3. Criterios de inclusión	8
6.4. Criterios de exclusión	8
6.5. Metodología	9
6.6. Variables	14
6.7. Análisis estadístico	14
7. Aspectos éticos	16
8. Resultados	17
9. Discusión	19
10. Conclusiones	22
11. Recomendaciones	23
12. Bibliografía	24
13. Anexos	32
13.1. Ficha de recolección de la información	32
13.2. Tablas de resultados	33
13.3. Figuras de resultados	37
13.4. Algoritmo	46

## Resumen

**Objetivo.** Determinar la resistencia antimicrobiana y detectar beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE's) de uropatógenos aislados en pacientes ambulatorios, para inferir las opciones terapéuticas de manejo inicial en condiciones de alta resistencia. **Métodos.** Estudio de corte transversal entre julio de 2006 y junio de 2007, en pacientes de una institución privada, con edades  $\geq$  de 3 años. La identificación y susceptibilidad de los microorganismos se efectuó en un sistema automatizado, excepto para la sensibilidad a fosfomicina trometamina, que se efectuó por el método de difusión en placa. La determinación de BLEE's se realizó por método automatizado, difusión en placa y PCR. **Resultados.** De 1685 especímenes de orina, la muestra final fue de 257 (15.3%) cultivos positivos, de 215 (83.7%) mujeres y 42 (16.3%) hombres. La resistencia global fue la siguiente: ampicilina, 68.4%; amoxicilina/ácido clavulánico, 19.5%; ciprofloxacina, 36.3%; cefalotina, 64.7%; ceftriaxona, 12.2%; cefuroxima, 18.7%; nitrofurantoína, 19%; trimetoprim/sulfametoxazol, 53.4%; fosfomicina trometamina, 0.8%; y gentamicina 18.9%. El germen más frecuente fue *Escherichia coli*, con 203 (79%) aislamientos; la resistencia específica de esta especie fue semejante a la global. De 173 cepas estudiadas se confirmó la presencia de BLEE's por difusión en placa en 20 (11.6%) cepas de *E. coli*. La PCR para la determinación de BLEE<sub>SHV</sub> resultó positiva en 9 (5.2%) cepas; de éstas, 6 fueron *K. pneumoniae* y 3 *E. coli*; seis aislados presentaron el tipo SHV-12 y tres el SHV-76. **Conclusiones.** Los laboratorios de microbiología deben realizar la

búsqueda de BLEE's para informar al clínico opciones de manejo terapéutico y conocer su prevalencia. La tasa de resistencia a los antibióticos comúnmente utilizados es alarmante y se cuenta con pocos antibióticos para el tratamiento empírico de las IVU de la comunidad; para controlar el problema, las autoridades de salud deben regular el uso indiscriminado de antibióticos.

**Palabras clave:** resistencia, antibióticos, infección urinaria, beta-lactamasas.

## 1. Introducción

Las infecciones de vías urinarias (IVU) por bacterias son las más comunes en los pacientes ambulatorios. Predominan en mujeres y en su mayoría son causadas por *Escherichia coli* (1). Hasta hace algunas décadas, el manejo de las IVU en estos pacientes era sencillo, pues se contaba con varias opciones terapéuticas eficaces por vía oral. Sin embargo, cuando existen tasas altas de resistencia, se vuelve difícil la selección empírica de un antibiótico antes de contar con un resultado de cultivo y susceptibilidad a los antibióticos. La resistencia a los antibióticos de los microorganismos causales de IVU de pacientes ambulatorios es un buen centinela de la resistencia en la comunidad; Le y Miller sugieren que un punto crítico de la relación costo-beneficio en IVU se alcanza cuando el porcentaje de *E. coli* resistente a trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ) supera el 20% (2).

La resistencia a los antimicrobianos en la comunidad muestra un patrón relacionado con la geografía política mundial. Los niveles de resistencia son tan elevados que la mayoría de los autores lo consideran como un problema de salud pública, particularmente en países en vías de desarrollo (3-7).

## 2. Marco teórico

### 2.1 Antecedentes

Se conocen varias causas del incremento en la resistencia, tales como:

1) prescripción y venta indiscriminada de antibióticos para uso humano y animal; 2) resistencia cruzada entre antibióticos del mismo grupo, e incluso, de grupos diferentes; 3) hospitalización reciente; 4) IVU recurrentes y multitratadas; y 5) viajes a países con tasas de resistencia elevadas, debido a la colonización fecal (8, 9).

Debemos considerar que las bacterias cuentan con mecanismos para generar resistencia, tales como: 1) la conjugación entre microorganismos emparentados o no, con el intercambio de plásmidos promiscuos que permite, entre otras cosas, la producción de enzimas, tales como las beta-lactamasas; 2) la transducción mediada por bacteriófagos; y 3) la transformación, donde la simple lisis libera el DNA que será captado por una bacteria receptora. La conjugación es un mecanismo de alto impacto clínico pues las beta-lactamasas, localizadas principalmente en plásmidos, hidrolizan el anillo beta-lactámico e inactivan a la penicilina y sus derivados. Si consideramos que los betalactámicos son los antibióticos más utilizados, podremos ponderar mejor la importancia de estas enzimas.

La primera beta-lactamasa fue identificada en los 1940's, pero a partir de 1983 se determinó un nuevo tipo de beta-lactamasas producidas por *Klebsiella spp.* y *E. coli* que podían hidrolizar a las oximino-cefalosporinas y se les denominó como beta-lactamasas de espectro extendido o ampliado (BLEE's) (10); la primera de estas enzimas fue la SHV-2, aislada en Alemania de una

cepa de *K. ozaenae*. Se han descrito más de 200 tipos diferentes designados por nomenclaturas y difieren sólo por algunos aminoácidos (11).

Las BLEE's están distribuidas a nivel mundial en varios microorganismos; su prevalencia ha ido en aumento y varían de un país a otro e inclusive de una institución a otra. Las BLEE's fueron inicialmente descubiertas en aislados clínicos de hospitales pero ya se ha informado su presencia en la comunidad (12). Actualmente, las BLEE's más comunes son los tipos SHV y TEM; la primera es la más frecuente en los aislados clínicos (sangre, orina, secreción de heridas y esputo) (13).

Existen diferentes clasificaciones para las BLEE's: a) la molecular, según Amber; b) la basada en el sustrato y la localización de codificación del gen de la beta-lactamasa, según Richmond y Sykes; y c) la más reciente, que incluye las propiedades bioquímicas de la enzima, la estructura molecular y la secuenciación nucleotídica de sus genes; éstas se organizan en grupos funcionales descritos por Bush, Jacoby y Medeiros (14). Las TEM y las SHV generalmente se encuentran en especies de *E. coli* y *K. pneumoniae*; otros tipos de BLEE's son CTX-M y Toho, OXA, PER, CME, SFO, GES y VEB (15).

La resistencia a los nuevos beta-lactámicos por beta-lactamasas surge rápidamente; además se incrementa debido a que los genes que codifican para las BLEE's se encuentran en casets con otros genes que codifican para la resistencia de aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, TMP/SMZ y fluoroquinolonas. Por fortuna, las bacterias productoras de beta-lactamasas son susceptibles a los inhibidores de las beta-lactamasas tales como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam, que actúan destruyendo la pared celular

y son clasificados como bactericidas.

Los riesgos de infección o colonización por microorganismos productores de BLEE's en los hospitales incluyen la estancia en la unidad de cuidados intensivos, cirugía reciente, presencia de catéteres intravasculares o urinarios, hemodiálisis, colonización intestinal, estancia intrahospitalaria prolongada, el bajo peso en recién nacidos y la exposición a cualquier antibiótico, pero especialmente la exposición a antibióticos beta-lactámicos de espectro extendido. Para infecciones en la comunidad, existen factores tales como la diabetes mellitus, el uso previo de quinolonas, las IVU recurrentes, las hospitalizaciones previas y la edad (16).

La detección de BLEE's en cepas aisladas en el laboratorio de microbiología es de gran utilidad para la terapéutica, la epidemiología y el control de infecciones. Existen métodos bioquímicos, fenotípicos y moleculares para su detección. Los métodos fenotípicos son los más utilizados y de éstos el de doble disco. Los métodos moleculares son útiles para la confirmación definitiva y permiten caracterizar los genes implicados en la resistencia del microorganismo. En los métodos bioquímicos están el isoelectroenfoque (IEF), el análisis de perfil de antibióticos y la cinética enzimática. Entre los métodos fenotípicos están los siguientes: 1) la aproximación de doble disco; 2) la combinación de disco, en donde se requiere el uso conjunto de cefotaxima y ceftazidima, solas y en combinación con ácido clavulánico; un diámetro del halo de inhibición  $\geq 5\text{mm}$  con cualquiera de los agentes antimicrobianos analizados en combinación con el ác. clavulánico vs. el tamaño del halo de inhibición que

se produce alrededor del disco con un solo antibiótico, confirma la detección de BLEE's; 3) los métodos automatizados, como el sistema Microscan® que utiliza un panel de microdiluciones en caldo; y 4) los métodos moleculares, los cuales son utilizados cuando ha sido confirmado el fenotipo de BLEE's; entre ellos tenemos: a) la reacción de la polimerasa en cadena (PCR), la cual es fácil de realizar, está bien estandarizada y con la posterior secuenciación del producto, este método se considera como el "estándar de oro"; b) sondas de DNA; c) polimorfismo conformacional de cadena sencilla-PCR; d) PCR "multiplex"; e) oligotipificación; f) reacción de la ligasa en cadena; g) "Southern blot"; h) hibridación de colonias *in situ*; i) determinación de perfiles de plásmidos y conjugación de plásmidos (13, 15, 17).

Las implicaciones clínicas por no detectar BLEE's son la falla en el tratamiento; y en caso de su detección, se debe informar que la cepa es resistente a penicilinas, cefalosporinas y aztreonam, independientemente del resultado de su susceptibilidad, para evitar un mal manejo terapéutico.

En el presente estudio nos propusimos determinar la resistencia de uropatógenos aislados en un grupo de pacientes ambulatorios de una institución médica privada de la ciudad de México. Con esta información, tratamos de inferir las opciones terapéuticas de manejo inicial en condiciones de alta resistencia y determinamos la prevalencia de SHV en *E. coli* y *Klebsiella spp.* mediante métodos fenotípicos y moleculares las cuales no se han estudiado previamente en aislados de la comunidad. El conocimiento de la prevalencia de las BLEE's será útil para guiar el manejo de las infecciones en

vías urinarias y permitirá abordar racionalmente el problema de la resistencia a los antibióticos en la comunidad.

### **3. Justificación**

Existen informes de prevalencia de resistencia a los antimicrobianos utilizados en IVU de más del 20% y contamos con pocas opciones de tratamiento. Se desconoce la prevalencia de BLEE's en *E. coli* y *Klebisella spp.* obtenidas de infecciones urinarias de la comunidad. El conocimiento de la tasa de prevalencia servirá para guiar el manejo de las infecciones de vías urinarias y permitirá abordar racionalmente el problema de la resistencia a los antibióticos en la comunidad.

### **4. Planteamiento del problema**

¿Cuál es la prevalencia de resistencia a los antimicrobianos más comunes y de las beta-lactamasas de espectro extendido en enterobacterias de infecciones urinarias de la comunidad?

## **5. Objetivos**

### **5.1. Objetivos generales**

Conocer la prevalencia de resistencia a los antimicrobianos más utilizados y de las BLEE's en enterobacterias aisladas de infecciones urinarias de la comunidad.

### **5.2. Objetivos particulares**

5.2.1. Determinar la prevalencia de BLEE's por:

- m) Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM) a antibióticos en un sistema automatizado.
- n) Confirmación de la presencia de BLEE's por método de combinación de cefalosporinas/ácido clavulánico en placa de agar.

5.2.2. Determinar el tipo de BLEE's en aislados clínicos de infecciones de vías urinarias mediante la amplificación del gene SHV con la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) y la secuenciación de los productos amplificados.

5.2.3. Comparar los métodos fenotípicos y genotípicos para la detección de las BLEE's en aislados clínicos de infecciones urinarias.

## **6. Método**

### **6.1. Tipo de estudio**

Ensayo de corte transversal

### **6.2. Universo y muestra del estudio**

Se tomaron especímenes de orina en pacientes ambulatorios del Centro Médico ABC, durante el período de julio de 2006 a enero de 2007, para realizar urocultivo y pruebas de susceptibilidad a antibióticos.

### **6.3. Criterios de inclusión**

Se incluyeron especímenes de orina de chorro medio de pacientes ambulatorios con edades iguales o mayores de 3 años y que no hubieran estado hospitalizados durante los 30 días previos. En aquellos pacientes que tuvieron más de un cultivo positivo, sólo se incluyó el primer aislado. Al reclutamiento de los pacientes se anotaron los datos generales que incluyen edad, género, y número de identificación (Ficha 1).

### **6.4. Criterios de exclusión**

Se excluyeron las muestras de pacientes con sonda urinaria.

## 6.5. Metodología

**Cultivo de especímenes de orina de chorro medio.** Las muestras fueron tomadas en condiciones asépticas por chorro medio. Se inoculó 1 µL de cada muestra en medio de agar sangre y agar MacConkey. Los medios fueron incubados a 37 °C durante 24 horas. Se consideraron como cultivos positivos aquellos que tuvieron desarrollo monomicrobiano igual o mayor de 100,000 unidades formadoras de colonias (UFC)/mL. Se excluyeron del análisis: 1) los aislados probables contaminantes de las especies de *Difteroides*, *Streptococcus viridans*, y estafilococo coagulasa negativa (con excepción de *Staphylococcus saprophyticus*) (18); y 2) las levaduras.

### 6.5.1. Procedimientos para la identificación y susceptibilidad de los aislados clínicos

La identificación de los microorganismos se efectuó en el panel de pruebas bioquímicas del sistema comercializado Microscan® (Dade Behring, Sacramento CA., E. U. A.) (Figura 1); además, de la adición de pruebas bioquímicas convencionales en casos particulares, en donde los aislados no fueron identificados apropiadamente. Las pruebas de susceptibilidad se realizaron por microdilución con el sistema Microscan siguiendo las instrucciones del fabricante. Para los bacilos gramnegativos se utilizó el panel Combo 6® (Figura 2), que incluye los siguientes antibióticos: amikacina, amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, ampicilina, cefazolina, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima, cefalotina, ciprofloxacina, gentamicina,

lomefloxacina, nitrofurantoína, norfloxacina, ofloxacina, piperacilina, SMZ, tetraciclina, tobramicina, TMP-SMZ y TMP. Para *Pseudomonas aeruginosa* se excluyeron los antibióticos betalactámicos sin actividad para este germen, así como tetraciclina y sulfas. Para los enterococos se utilizó el panel Combo 12®, que incluye los siguientes antibióticos: ampicilina, ciprofloxacina, estreptomina sinérgica, gentamicina sinérgica, nitrofurantoína, norfloxacina, penicilina, rifampicina, tetraciclina y vancomicina.

La susceptibilidad a fosfomicina trometamina se efectuó utilizando discos de 200 µg (Oxoid®; Basingstoke, Hampshire, Inglaterra) utilizando el método de difusión en placa de agar (Kirby-Bauer) como se describe a continuación: la cepa se resembró en agar sangre y fue incubada a 37 °C; se inoculó 1 ó 2 colonias en solución salina estéril ajustando a una turbidez de 0.5 de Mc Farland. Para inocular el medio de cultivo de Muller-Hinton se introdujo un hisopo estéril en la suspensión y se giró varias veces, y antes de sacarlo se presionó contra las paredes del tubo para exprimir el excedente. Se inoculó el agar en forma uniforme rotando el hisopo repitiendo el proceso en tres ocasiones. El agar se dejó secar y antes de 15 minutos se colocó el disco con una pinza y se incubó a 37 °C; a las 24 horas se examinó y se midió el halo de inhibición (Figura 3). La interpretación del halo de inhibición fue:  $\geq 16$  mm, sensible; de 13 a 15 mm, intermedio; y  $\leq 12$  mm resistente. Estos halos de inhibición equivalen a la CIM  $\leq 128$  para aislado sensible y  $\geq 256$  µg/mL para aislado resistente (19, 20).

### 6.5.2. Procedimientos para la confirmación de BLEE's

a) **Susceptibilidad antimicrobiana por el método de combinación de cefalosporina/ácido clavulánico en placa de agar.** Se utilizaron discos de ceftazidima (30 µg), y de ceftazidima-ácido clavulánico (30-10 µg), cefotaxima (10 µg) y de cefotaxima-ácido clavulánico (30-10 µg) (BD BBL® Sparks, Maryland, E. U. A), utilizando el método de Kirby-Bauer como se muestra en la Figura 4. Un aislado es productor de BLEE's cuando el diámetro del halo de inhibición es  $\geq 5\text{mm}$  con cualquiera de los agentes antimicrobianos analizados en combinación con el ácido clavulánico vs. el tamaño del halo de inhibición al ser analizados por sí solos (17).

a) **PCR para la determinación de BLEE<sub>SHV</sub>.** Las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* se resembraron en agar MacConkey y se incubaron 24 horas a 37 °C. Se extrajo el DNA bacteriano colocando una asada de colonias en 100 µL de la solución buffer TE (Tris-EDTA 10:1 mM), se mezcló en el vórtex y se colocó en baño seco por 10 min a 95 °C; posteriormente, se centrifugó a 8000 rpm por 2 minutos. Del sobrenadante se utilizaron 5 µL como DNA templado. Se utilizaron los siguientes iniciadores para la mezcla: SHV-F (5'-AACGGAACTGAATGAGGCGCT), y SHV-R (5'-TCCACCATCCACTGCAGCAGCT) (Invitrogen ® Brasil)

previamente probados (21). Las condiciones de la reacción fueron: volumen total de la reacción 50  $\mu$ L, buffer de reacción 1 $\times$ ,  $MgCl_2$  1.5 mM, deoxinucleótidos trifosfatos (dNTP's) 200  $\mu$ M, 10 pmol/ $\mu$ L de cada uno de los oligonucleótidos y 1.5 U de *Taq* polimerasa. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador (MJ Researches Inc., Watertown, Mass, E. U. A) (Figura 5), con las siguientes condiciones: 1) desnaturalización inicial a 94 °C, por 5 min; 2) en 35 ciclos: desnaturalización a 94 °C, por 1 min; alineamiento de los iniciadores, 62 °C, por 1 min, y extensión o polimerización a 72 °C, por 1 min; 3) extensión final a 72 °C, por 10 min. Se incluyeron: un control positivo, DNA de una cepa de *K. pneumoniae* bien caracterizada que presenta BLEE<sub>SHV</sub> y un control negativo de reactivos sin DNA. Para la observación de los amplicones, se tomaron 8  $\mu$ L de cada producto amplificado y se corrieron por electroforesis en gel de agarosa al 2% en amortiguador TBE 0.5 $\times$  a 100 Volts durante 60 minutos (Figura 6). Posteriormente, el gel fue teñido con bromuro de etidio y se observó en transiluminador con luz ultravioleta. Se tomó fotografía en una cámara Polaroid (MP4, Cambridge, Mass, E. U. A) (Figura 7).

**b) Secuenciación de los productos amplificados.** Para corroborar el tipo de BLEE<sub>SHV</sub>, se realizó la secuencia nucleotídica

de un fragmento de 141 pb el cual está contenido en el gen SHV. Los productos de PCR fueron probados en un gel de agarosa al 2% y teñidos con bromuro de etidio (0.5µg/mL) para observar la banda de 141 pb. Los productos de PCR fueron purificados para eliminar el exceso de nucleótidos y de oligonucleótidos (Qiaquick Gel Extraction, Quiagen, Stanford, CA, E. U. A). La reacción de secuenciación de los productos purificados se hizo con el equipo de secuenciación fluorescente (Perkin Elmer, Foster City, CA, E. U. A) y secuenciados directamente en un secuenciador automatizado Applied Biosystems 373 A (Perkin Elmer), según las instrucciones del fabricante.

**c) Análisis de secuenciación.** Se realizó alineamiento entre las secuencias de los aislados en el programa VECTOR NTI Advanced V. 10.3 (Invitrogen, Carlsbad, CA) y se realizó búsqueda de las secuencias en la base de datos BLASTx (EMBL, SwissProt, and PIR databases) (22).

### **6.5.3. Procedimientos de control de calidad**

El control de calidad utilizado para las pruebas de susceptibilidad en placa de agar se realizó de acuerdo con las recomendaciones del CLSI. En cada lote de pruebas se incluyeron las cepas control ATCC *E. coli* 25922 y *Staphylococcus aureus* 25923. Para la técnica de biología molecular por PCR se realizó la determinación de los controles positivos de cepas conocidas de SHV y para los controles negativos se utilizó la mezcla de reactivo usada en la reacción sin DNA.

## **6.6. Variables**

### **6.6.1. Independientes**

Edad, género y especie bacteriana

### **6.6.2. Dependientes**

Resistencia bacteriana y producción de BLEE's

## **6.7. Análisis estadístico**

La resistencia de las cepas se expresó en proporciones porcentuales con intervalos de confianza del 95%, de acuerdo con 1.96 errores estándar superiores e inferiores a la proporción. La muestra mínima se calculó en 98 cepas para una proporción de resistencia del 10%, con niveles de 0.05 y de 0.1. Para el cálculo de la utilidad de la prueba diagnóstica se utilizaron los parámetros de sensibilidad y especificidad.

Para la realización de una tabla comparativa de resistencias en diversos países se consultaron las referencias publicadas desde el año 2000 a la actualidad, obtenidas de búsquedas de artículos de IVU en la comunidad enlistados en Medline, Index Medicus®, e Imbiomed®.

## **7. Aspectos éticos**

El presente estudio no viola norma alguna de la investigación clínica. Se trabajó sobre muestras de laboratorio que se obtuvieron sin instrumentación y sólo por indicación clínica. De acuerdo con la Ley General de Salud puede clasificarse como estudio sin riesgo. Por otra parte, se espera obtener información útil para los clínicos y para conocer mejor la patología de infecciones urinarias de los pacientes.

## 8. Resultados

Durante el periodo de estudio se recibieron 1685 especímenes de orina de pacientes que cumplieron los criterios de inclusión. De ellos, 384 (22.8%) tuvieron cultivos positivos, de los cuales se excluyeron 127 por las siguientes causas: 84, desarrollo de más de una morfología; 38, desarrollo no significativo; 4, fueron levaduras; y 1 fue desarrollo de probable contaminante. De este modo, la muestra final se conformó de 257 (15.3%) aislados; la distribución por edad y género de los pacientes se muestra en la Tabla 1. En la Tabla 2 se muestra la frecuencia de los aislados clínicos, en donde se observa que *E. coli* fue el microorganismo más frecuente, con 203/257 (79%) aislados.

La Tabla 3 muestra la proporción de resistencia de los aislados clínicos de infecciones urinarias y su eventual utilidad clínica *a priori* de la identificación bacteriana. Encontramos sólo dos cepas resistentes a fosfomicina trometamina: una de *E. coli* y una de *K. pneumoniae*.

En la Tabla 4 se observa la comparación entre la resistencia a los antibióticos más utilizados para *E. coli* en IVU de pacientes de la comunidad en estudios de países industrializados y países en desarrollo; el porcentaje de resistencia se calculó con la suma de las cepas intermedias y resistentes. Como se observa la tasa de resistencia informada en este estudio se encuentran entre las más altas aún dentro de los países en desarrollo.

De los 257 aislados bacterianos sólo se guardaron 173 cepas, de las cuales 167 (96.5%) fueron *E. coli* y 6 (3.5%) *K. pneumoniae*. Por los informes del equipo automatizado se detectaron 12 (6.9%) aislados de *E. coli* productoras presuntivas de BLEE's y 13 (7.5%) aislados de *E. coli* productoras

definitivas; de este modo, el equipo automatizado detectó 25 (14.5%) aislados. Por otra parte, por el método de combinación de cefalosporina/ácido clavulánico en placa de agar detectó 20 (11.6%) aislados de *E. coli*. Ninguno de los métodos fenotípicos detectó BLEE´s en los aislados de *K. pneumoniae*.

La comparación entre los resultados fenotípicos por el método automatizado y el método de combinación en placa de agar fue la siguiente: el 58% (7/12) de las probables BLEE´s y 84.6% (11/13) reportadas como BLEE´s por método automatizado fueron confirmadas por el método de combinación en placa de agar. Puesto que el método de combinación de cefalosporina/ácido clavulánico en placa de agar se considera como el estándar de oro de las pruebas fenotípicas, la detección por método automatizado resultó con una sensibilidad de 90% (18/20) y especificidad de 95.4% (146/153), con valor predictivo positivo del 72% (18/25) y el valor predictivo negativo de 98.6% (146/148).

La PCR para la determinación de BLEE<sub>SHV</sub> resultó positiva en 9 (5.2%) cepas; de éstas, 6 fueron *K. pneumoniae* y 3 *E. coli* (Figura 8). Las cepas detectadas con BLEE<sub>SHV</sub> por método genotípico no fueron detectadas por los métodos fenotípicos.

Los resultados del análisis de la secuenciación fueron: seis aislados presentaron el tipo SHV-12 y tres el SHV-76. En la Figura 9 se encuentra el dendograma, donde se observa la similitud de la betalactamasa entre los aislados clínicos y las secuencias consenso.

## 9. Discusión

Nuestros resultados muestran que la resistencia a los antimicrobianos en infecciones comunitarias es un problema de salud pública. Como se observa en la Tabla 4, el problema de resistencia es particularmente grave en los países en vías de desarrollo, e incluso dentro de este subgrupo, México tiene algunas de las tasas más altas de resistencia. Respecto de la producción de BLEE´s en cepas de la comunidad nuestros resultados también exceden de lo informado en la literatura internacional, pues se han informado de 5.6% en Tailandia y de 1.3% en Israel (12, 16, 40, 41).

La baja resistencia a la fosfomicina trometamina nos señala cómo un antibiótico que ha sido poco utilizado mantiene intacta su actividad *in vitro* y puede considerarse como un antibiótico de primera línea; de hecho, ya se ha recomendado como alternativa en el tratamiento de IVU en otros estudios (42-46). Este es un ejemplo de cómo el cuidado de los antimicrobianos conserva su actividad; en Japón, donde el TMP-SMZ se usa poco para el manejo de las IVU, su resistencia en la comunidad es menor del 5% (47). Por desgracia, en varios países, el uso indiscriminado de antibióticos en la comunidad se combina con la pobre infraestructura y calidad de los laboratorios de microbiología, que imposibilita la detección confiable de las resistencias.

Se debe aceptar que existe un problema en la elección de la técnica para la determinación de BLEE´s, ya que se cuenta con varios métodos para su búsqueda. Existe un “estándar de oro” que es la secuenciación, sin embargo, a pesar de ser un método sencillo, se requiere de infraestructura y personal especializado, lo que resulta costoso para su uso diario (13). En el Centro

Médico ABC, se informa la detección de BLEE's por el equipo automatizado Microscan; si bien este método no es el estándar se puede inferir que los informes actuales son de buena calidad puesto que alcanzan una sensibilidad y especificidad superior al 90% como lo muestran los resultados del presente estudio. Si se requiere confirmar la producción de BLEE's por alguna cepa específica, el método de agar combinado es fácil de realizar, el costo no es elevado y se puede implementar en cualquier laboratorio de microbiología. Este método es seguro para informar al clínico la presencia de BLEE's para el tratamiento apropiado del paciente. Por otro lado, se puede determinar la epidemiología de dicha resistencia, tanto en la comunidad como en los hospitales; esta información sería muy valiosa para prevenir y controlar el problema de la resistencia por la presencia de BLEE's.

Interesantemente, las cepas detectadas por pruebas moleculares no fueron determinadas por los métodos fenotípicos en nuestro estudio. A pesar de que la SHV está determinada por plásmidos, es muy probable que no se estuviera expresando en los nueve aislados de nuestros pacientes (15). Sin embargo, no podemos descartar por completo la posibilidad de que la expresión genética pudiera eventualmente tener importancia clínica en pacientes que reciban cefalosporinas de amplio espectro (48). Por otro lado, encontramos la presencia de SHV12 y SHV-76, las cuales han sido encontradas en otros estudios en México (49).

Ya se ha informado la presencia de BLEE's en bacterias aisladas de pacientes mexicanos; dichos informes corresponden a cepas de infecciones nosocomiales (49-51). Nuestro estudio es el primero en informar la presencia

de BLEE's en infecciones urinarias comunitarias en México. Con seguridad el fenómeno obedece a la búsqueda intencionada con diferentes métodos y por el uso indiscriminado de antibióticos para infecciones comunitarias. Sin duda, los resultados del presente estudio no son buenas noticias respecto a la tendencia de resistencia a antimicrobianos en el futuro.

Debemos señalar dos limitaciones de nuestro estudio. En primer lugar, la muestra estudiada procede de una sola institución; sin embargo, confiamos que es representativa de la población mexicana de áreas urbanas pues nuestros resultados concuerdan con estudios recientes de resistencia en México (4). En segundo lugar, contamos con información clínica limitada, lo que nos impide definir que todos nuestros pacientes tuvieran IVU y no sólo bacteriuria sin impacto clínico; sin embargo, la proporción de los aislamientos sugiere su significancia clínica, toda vez que corresponde también con la informada en la literatura.

## **10. Conclusiones**

En conclusión, si los especímenes analizados en este trabajo son, como creemos, una muestra representativa del problema en México y en países en vías de desarrollo, la tasa de resistencia es alarmante, contamos con pocos antimicrobianos para el tratamiento empírico de las IVU no complicadas y ya existe la presencia de BLEE's en cepas de la comunidad.

## 11. Recomendaciones

Creemos que con los resultados obtenidos en este estudio es necesario hacer algunas recomendaciones para la búsqueda intencionada de resistencia a antimicrobianos y para el manejo adecuado de los pacientes:

1. Los laboratorios de microbiología clínica deben realizar la búsqueda fenotípica de BLEE's al menos con un sistema automatizado o por doble disco, incluso en enterobacterias de infecciones comunitarias.
2. Es recomendable seguir un algoritmo en los laboratorios de microbiología clínica para la búsqueda intencionada de BLEE's. En la figura 9 se muestra un algoritmo posible de seguir para la determinación de BLEE's (52).
3. Los médicos deben conocer la epidemiología de la resistencia bacteriana de la población que atienden. De lo contrario, el manejo empírico de las infecciones comunitarias tiene alta probabilidad de falla.
4. Para controlar el problema de la creciente resistencia a los antibióticos, las autoridades de salud deben dar pasos significativos, tales como vigilar que se exija una receta para la venta de los antibióticos.

## 12. Bibliografía

- 1) Ochoa Sagrador C, Eiros Bouza JM, Pérez Mendez C, Inglada Galiana L, y grupo de estudio de los tratamientos antibióticos. Etiología de las infecciones del tracto urinario y sensibilidad de los uropatógenos a los antimicrobianos. Rev Esp Quimioterap 2005; 18:124-35.
- 2) Le TP, Miller LG. Empirical therapy for uncomplicated urinary tract infections in an era of increasing antimicrobial resistance: a decision and cost analysis. Clin Infect Dis 2001; 33:615-21.
- 3) Andrade SS, Sader HS, Jones RN, Pereira AS, Pignatari ACC, Gales AC. Increased resistance to first-line agents among bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in Latin America: time for local guidelines? Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; 101:741-8.
- 4) Sifuentes-Osornio J, Donis-Hernandez J, Arredondo-Garcia JL, Escalante-Ramirez O, Macias A, Muñoz JM, et al. Report on bacterial resistance: pilot study of six mexican centers. In: Salvatierra-Gonzalez R, Benguigui Y. Antimicrobial resistance in the Americas: Magnitude and containment of the problem. Pan American Health Organization. Washington, D.C. 2000:158-62.
- 5) Gupta K, Sahm DF, Mayfield D, Stamm WE. Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in women: a nationwide analysis. Clin Infect Dis 2001; 33:89-94.

- 6) Gupta K, Hooton TM, Stamm WE. Increasing antimicrobial resistance and the management of uncomplicated community-acquired urinary tract infections. *Ann Intern Med* 2001; 135:41-50.
- 7) Kahlmeter G, Munday P. Cross-resistance and associated resistance in 2478 *Escherichia coli* isolates the pan-european ECO-SENS project surveying the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52:128-31.
- 8) Dromigny JA, Nabeth P, Juergens-Behr A, Perrier-Gros-Claude JD. Risk factors for antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections in Dakar, Senegal. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56:236-9.
- 9) Murray BE, Mathewson JJ, DuPont HL, Ericsson CD, Reves RR. Emergence of resistant fecal *Escherichia coli* in travelers not taking prophylactic antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34:515-8.
- 10) Philippon A, Labia R, Jacoby G. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33:1131-6.
- 11) Jacoby GA.  $\beta$ -lactamase nomenclature. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:1123-9.
- 12) Pitout JDD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of enterobacteriaceae producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56:52-9.

- 13) Al-Jasser AM. Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs): a global problem. *Kuwait Medical Journal* 2006; 38:171-85.
- 14) Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:1211-33.
- 15) Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21<sup>st</sup> century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews* 2001; 14:933-51.
- 16) Rodriguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martinez-Martinez L, Muniain MA, Perea EJ, et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol* 2004; 42:1089-94.
- 17) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Fifteenth International Supplement. M2-A8. 2005; 25:11-58.
- 18) Isenberg HD, Clarke LM, Della-Latta P, Denys GA, Garcia LS, Hazen KC, et al. Essential procedures for clinical microbiology. ASM Press, Washington, DC. 1998.
- 19) Barry AL, Fuchs PC. In vitro susceptibility testing procedure for fosfomicin tromethamine. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35:1235-8.

- 20) Fuchs PC, Barry AL, Brown SD. Susceptibility testing quality control studies with fosfomycin tromethamine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16:538-40.
- 21) Chia JH, Chu C, Su LH, Chiu CH, Kuo AJ, Sun CF, et al. Development of a multiplex PCR and SHV melting-curve mutation detection system for detection of some SHV and CTX-M  $\beta$ -Lactamases of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter cloacae* in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005; 43:4486-91.
- 22) Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 1994; 22:4673–80.
- 23) Goldstein FW, and the multicentre study group. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections in France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:112-7.
- 24) Goettsch W, Pelt WV, Nagelkerke N, Hendrix MGR, Buiting AGM, Petit PL, et al. Increasing resistance to fluoroquinolones in *Escherichia coli* from urinary tract infections in The Netherlands. *J Antimicrob Chemoter* 2000; 46:223-8.
- 25) Olafsson M, Kristinsson KG, Sigurdsson JA. Urinary tract infections, antibiotic resistance and sales of antimicrobial drugs. An observational study of uncomplicated urinary tract infections in Icelandic women. *Scand J Prim Health Care* 2000; 18:35-8.

- 26) Kerrn MB, Klemmensen T, Frimodt-Miller, Espersen F. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of *sul* genes conferring sulphamide resistance. *J Antimicrob Chemoter* 2002; 50:513-6.
- 27) Kahlmeter G, Menday P, Cars O. Non-hospital antimicrobial usage and resistance in community-acquired *Escherichia coli* urinary tract infection. *J Antimicrob Chemoter* 2003; 52:1005-10.
- 28) Farrell DJ, Morrissey I, De Rubeis D, Robbins M, Felmingham D. A UK multicentre study of the antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens causing urinary tract infection. *J Infect* 2003; 46:94-100.
- 29) Jureen R, Digranes A, Baerheim A. [Urinary tract pathogens in uncomplicated lower urinary tract infections in women in Norway]. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2003; 123:2021-2. [Article in Norwegian].
- 30) [Lorente Garín JA](#), [Placer Santos J](#), [Salvadó Costa M](#), [Segura Álvarez C](#), [Gelabert-Mas A](#). Evolución de la resistencia antibiótica en las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad. *Rev Clin Esp* 2005; 205:259-64.
- 31) Salas CM, Gil-Setas A, Mazón A. Etiología y sensibilidad antibiótica de las infecciones extrahospitalarias más frecuentes. *An Sist Sanit Navar* 2006; 29:27-36.
- 32) Kurutepe S, Surucuoglu S, Sezgin C, Gazi H, Gulay M, Ozbakkaloglu B. Increasing antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from community-acquired urinary tract infections during 1998-2003 in Manisa, Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58:159-61.

- 33) Zhanel GG, Karlowsky JA, Harding GK, Carrie A, Mazzulli T, Low DE, et al. A Canadian national surveillance study of urinary tract isolates from outpatients: comparison of the activities of trimethoprim-sulfametoxazole, ampicillin, mecillinam, nitrofurantoin, and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:1089-92.
- 34) Karlowsky JA, Kelly LJ, Thornsberry C, Jones ME, Sahm DF. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from female outpatients in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:2540-5.
- 35) Hryniewicz K, Szczypa K, Sulikowska A, Jankowski K, Betlejewska K, Hryniewicz W. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from urinary tract infections in Poland. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47:773-80.
- 36) Stratchounski LS, Rafalski VV. Antimicrobial susceptibility of pathogens isolated from adult patients with uncomplicated community-acquired urinary tract infections in the Russian Federation: two multicentre studies, UTIAP-1 and UTIAP-2. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28 Supp 1:S4-9.
- 37) Al-Ali SM, Al-Hamdan AS, Al-Jarki FA, Al-Faraj JMK, Al-Musalem SS. Antimicrobial resistance pattern in urinary tract pathogens and its impact on empirical therapy in general practice. *Kuwait Medical Journal* 2005; 37:22-7.

- 38) Pedreira W, Anzalone L, Álvarez M, Cafferatta A. Fosfomicina trometamol. Una opción terapéutica válida en infecciones urinarias bajas. *Rev Med Uruguay* 2003; 19:107-16.
- 39) Biswas D, Gupta P, Prasad R, Singh V, Arya M, Kumar A. Choice of antibiotic for empirical therapy of acute cystitis in a setting of high antimicrobial resistance. *Indian J Med Sci* 2006; 60:53-8.
- 40) Tunyapanit W, Pruekprasert P. Extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* isolated from patients with community-acquired urinary tract infection at Songklanagarind hospital, Thailand. *J Infect Dis Antimicrob Agents* 2006; 23:51-6.
- 41) Colodner R, Keness Y, Chazan, Raz R. Antimicrobial susceptibility of community-acquired uropathogens in northern Israel. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 18:189-92.
- 42) Gobernado M. Fosfomicina. [Rev Esp Quimioter](#) 2003; 16:15-40.
- 43) Patel SS, Balfour JA, Bryson HM. Fosfomicin tromethamine. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy as a single-dose oral treatment for acute uncomplicated lower urinary tract infections. *Drugs* 1997; 53:637-56.
- 44) Sánchez-Merino JM, Guillán Maquieira C, Fuster Foz C, López Medrano R, Jiménez Rodríguez M, García Alonso J. Sensibilidad microbiana de *Escherichia coli* en bacteriurias en el área sanitaria del Bierzo en el año 2003. *Actas Urol Esp* 2004; 28:588-93.
- 45) Bretones Alcaraz JJ, Pino y Pino MD, Morales Torres M, Vivas-Pérez JJA, Molina Aparicio MJ, Garófano DV. Estudio observacional

de los urocultivos y antibiogramas realizados ambulatoriamente en un área de salud. Medifam 2002; 12:436-41.

- 46) Andreu A, Alós JI, Gobernado M, Marco F, de la Rosa M, García-Rodríguez JA, et al. Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad. Estudio nacional multicéntrico. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005; 23:4-9.
- 47) Ishihara S, Yokoi S, Masue N, Yamada T, Minamidate Y, Yasuda M, et al. Urinary tract-derived *Escherichia coli* resistant to co-trimoxazole in Japan, where the drug is seldom used for treating acute urinary tract infections. J Antimicrob Chemother 2002; 49:881-2.
- 48) Tzouvelekis LS, Vatopoulos AC, Katsanis G, Tzelepi E. Rare case of failure by an automated system to detect extended-spectrum - lactamase in a cephalosporin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolate. J Clin Microbiol 1999; 37:2388.
- 49) Silva J, Aguilar C, Becerra Z, Lopez-Antuñano F, Garcia R. Extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of enterobacteria in Mexico. Microb Drug Resist 1999; 5:189-93.
- 50) Miranda G, Castro N, Leños B, Valenzuela A, Garza-Ramos U, Rojas T, et al. Clonal and horizontal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* expressing SHV-5 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in a Mexican pediatric hospital. J Clin Microbiol 2004; 42:30-5.

- 51) Silva J, Gatica R, Aguilar C, Becerra Z, Garza-Ramos U, Velázquez M, et al. Outbreak of infection with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Mexican hospital. J Clin Microbiol 2001; 39:3193-6.
- 52) Steward CD, Rasheed JK, Hubert SK, Biddle JW, Raney PM, Anderson GJ, et al. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards Extended-Spectrum - Lactamases detection methods. J Clin Microbiol 2001; 39:2864-72.



### 13.2. Tablas

Tabla 1. Distribución por grupo de edad y género de 257 pacientes ambulatorios con urocultivo positivo.

Género	Grupos de edad			Total (%)
	3-14	15-65	>65	
Mujeres	15	138	62	215 (83.7)
Hombres	0	18	24	42 (16.3)
Total	15	156	86	257 (100)

Tabla 2. Frecuencia de los aislados clínicos en 257 urocultivos de pacientes ambulatorios.

Microorganismo	n	%
<i>Escherichia coli</i>	203	79
<i>Proteus mirabilis</i>	13	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	3.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	2.7
<i>Citrobacter freundii complex</i>	4	1.5
<i>Citrobacter koseri</i>	3	1.2
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	0.8
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0.4
<i>Morganella morganii</i>	1	0.4
<i>Enterococcus faecalis</i>	10	3.9
<i>Enterococcus faecium</i>	2	0.8
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	0.8
Total	257	100

Tabla 3. Proporción de resistencia de los aislados clínicos de infecciones urinarias de pacientes ambulatorios.

Antibiótico	Cepas resistentes		
	n /total*	%	IC (95%)
Ampicilina	169/247	68.4	62.2 a 73.8
Tetraciclina	166/249	66.7	60.8 a 72.5
Sulfametoxazol	152/234	65	58.9 a 71.1
Cefalotina	152/235	64.7	58.6 a 70.8
Ampicilina-sulbactam	149/234	63.7	57.5 a 69.8
Piperacilina	154/244	63.1	57.1 a 69.2
Trimetoprim	129/234	55.1	48.8 a 61.5
Trimetoprim-sulfametoxazol	126/236	53.4	47 a 59.8
Lomefloxacina	94/243	38.7	32.6 a 44.8
Ofloxacina	90/243	37	31 a 43.1
Ciprofloxacina	93/256	36.3	30.4 a 42.2
Norfloxacina	92/256	35.9	30.1 a 41.8
Tobramicina	60/242	24.8	19.4 a 30.2
Cefazolina	50/235	21.3	16.1 a 26.5
Amoxicilina-ácido clavulánico	46/236	19.5	14.4 a 24.5
Nitrofurantoína	47/248	19	14.1 a 23.8
Gentamicina	46/244	18.9	13.9 a 23.8
Cefuroxima	44/235	18.7	13.7 a 23.7
Ceftriaxona	30/245	12.2	8.1 a 16.3
Ceftazidima	27/243	11.1	7.2 a 15.1
Amikacina	8/224	3.6	1.1 a 6
Fosfomicina trometamina	2/257	0.8	0 a 1.9

\*Los denominadores son diferentes porque algunos antibióticos no tienen actividad intrínseca frente a especies determinadas.

Tabla 4. Estudios recientes de aislamientos de *E. coli* en infecciones de vías urinarias de pacientes ambulatorios. Porcentajes de resistencia a los antibióticos más utilizados.

Desarrollo Económico	Autor (referencia)	País	n	Antibiótico** (% resistencia)														
				AMP	AMC	CIP	CEF	CFT	CFX	NIT	T/S	FOS	GEN					
Industrializado	Goldstein FW, et al. 2000 (23)	Francia	865	ND	36.7	1.7	33.2	ND	22.4	ND	21.8	0.9	1.6					
	Goettsch W, et al. 2000 (24)	Holanda	91669	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5.1	ND	ND	ND				
	Olafsson M, et al. 2000 (25)	Islandia	431	36.9	ND	ND	45.5	ND	ND	1.4	ND	ND	ND	ND				
	Kern MB, et al. 2002 (26)	Dinamarca	59	20	ND	ND	ND	ND	ND	0	22	ND	ND	ND				
	Kahlmeter, et al. 2003 (27)	Europeos	2093	29.8	3.4	2.3	ND	ND	ND	1.2	14.1	0.7	1					
	Farrell DJ, et al. 2003 (28) ***	Reino Unido	568	ND	20.4	1.1	ND	ND	29.6	3.5	ND	ND	0.4					
	Jureen R, et al. 2003 (29)	Noruega	153	29	ND	1	ND	ND	ND	1	9	ND	ND					
	Lorente JA, et al. 2005 (30)	España	6062	61.8	10.5	29.1	ND	ND	5.6	7.1	31.2	0.9	ND					
	Salas CM, et al. 2006 (31)	España	6450	53.4	10.8	ND	ND	ND	ND	2.2	27.5	ND	ND					
	Kurutepc S, et al. 2005 (32) ***	Turquía	880	55.3	23.8	19.7	ND	ND	7.5	7.1	42	ND	15.1					
	Zhanel GG, et al. 2000 (33)	Canadá	1681	41	ND	1.2	ND	ND	ND	0.1	18.9	ND	ND					
	Gupta K, et al. 2001 (5) ***	EUA	63196	36.7	ND	2	ND	ND	ND	2	17.1	ND	ND					
	Karlowsky JA, et al. 2002 (34) ***	EUA	286,187	37.7	ND	1.84	ND	ND	ND	1.34	16.6	ND	ND					
<b>Total</b>		<b>13</b>	<b>460294</b>	<b>38.2</b>	<b>11.9</b>	<b>2.3</b>	<b>37.3</b>	<b>ND</b>	<b>9.2</b>	<b>2.3</b>	<b>17.2</b>	<b>0.8</b>	<b>3.6</b>					
En desarrollo	Hryniewicz K, et al. 2001 (35)	Polonia	330	45.5	3.6	3.9	ND	0	ND	8.8	19.1	3.3	1.8					
	Stratchounski LS, et al. 2006 (36)	Rusia	391	37.1	5.6	4.5	ND	ND	3.6	4.3	21	ND	ND					
	Al-Ali SM, et al. 2005 (37)	Kuwait	520	60.6	26	7.5	18.7	ND	ND	2.9	46.2	ND	3.5					
	Dromigny JA, et al. 2005 (8)	Senegal	398	73.6	57.5	ND	48.2	ND	ND	ND	67.8	ND	6.8					
	Pedreira W, et al. 2003 (38) ***	Uruguay	41	65.8	ND	ND	7.31	ND	ND	0	19.5	0	ND					
	Biswas D, et al. 2006 (39)	India	354	63.6	ND	35.1	ND	22.6	ND	9.3	40.7	ND	27.2					
	Andrade SS, et al. 2006 (3)	Latinoamérica	403	53.8	16.4	22.6	ND	1.5	23.6	6.9	40.4	ND	9.9					
	Presente estudio 2007	México	203	70.9	18.2	40.9	69.5	10.3	18.7	9.9	59.1	0.5	19.7					
	<b>Total</b>		<b>8</b>	<b>2640</b>	<b>57.4</b>	<b>22.3</b>	<b>16.7</b>	<b>37.3</b>	<b>8.3</b>	<b>14.8</b>	<b>6.3</b>	<b>41.3</b>	<b>2.1</b>	<b>10.3</b>				

\*\* AMP, ampicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulánico; CIP, ciprofloxacina; CEF, cefalotina; CFT, ceftriaxona; CFX, cefuroxima; NIT, nitrofurantoina; T-S, trimetoprim-sulfametoxazol; FOS, fosfomicina trometamina; GEN, gentamicina. \*\* ND= No determinado; \*\*\* Se calculó la media de los años estudiados.

### 13.3 Figuras



Figura 1. Equipo automatizado Microscan® (Dade Behreing) para la identificación bacteriana y la prueba de susceptibilidad por microdilución.



Figura 2. Panel de inoculación (Combo 6®) y la botella de inoculación para la identificación bacteriana y susceptibilidad automatizada por microdilución.

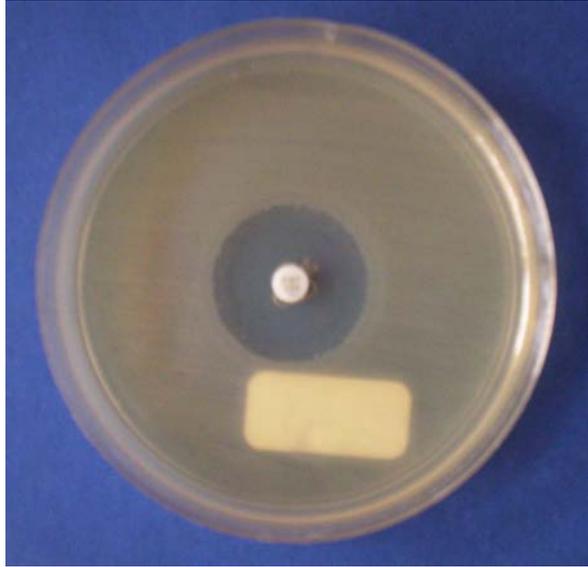
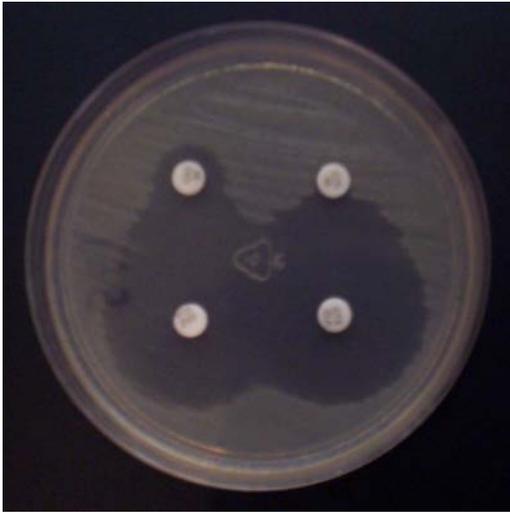


Figura 3. Placa de agar para la determinación de la susceptibilidad para fosfomicina trometamina con un halo de 20 mm de diámetro.



(A)



(B)

Figura 4. Método de combinación de cefalosporina/ácido clavulánico en placa de agar para la determinación de BLEE's. En la parte superior de las figuras se observan de izquierda a derecha los discos de ceftazidima y cefotaxima; y en la parte inferior, los discos de ceftazidima/ácido clavulánico y cefotaxima/ácido clavulánico. En la figura A, los halos de inhibición superiores fueron de 15 y 6 mm y los inferiores de 27 mm de diámetro. En la figura B, los halos de inhibición superiores fueron de 6 mm, y los inferiores de 14 y 16 mm de diámetro respectivamente.



Figura 5. Termociclador de DNA (MJ Researches Inc., Watertown, Mass, E. U. A).

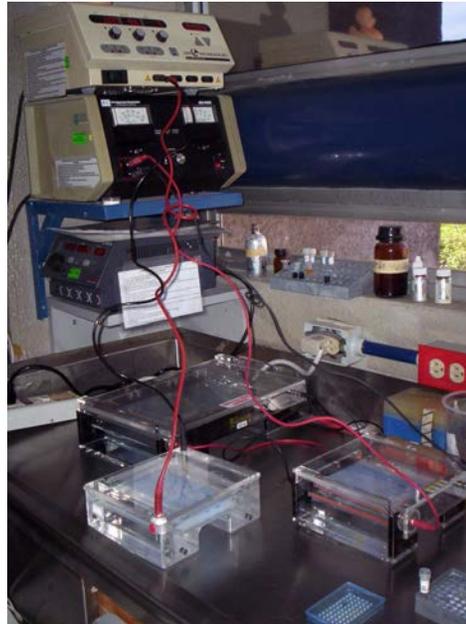
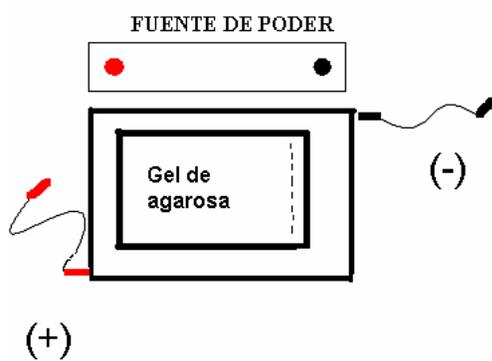
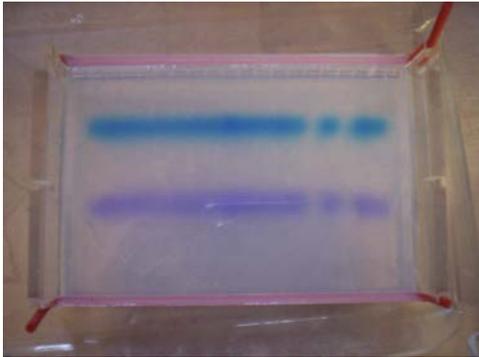


Figura 6. Cámara de electroforesis con fuente de alimentación eléctrica (o fuente de poder) (E-C-452, Apparatus Corporation, St. Petersburg, Florida) con geles de agarosa al 2%.



(A)



(B)

Figura 7. A la izquierda, gel de agarosa al 2% con corrimiento de la amplificación. A la derecha, transiluminador (JENCONS-PLS®) con fuente de luz ultravioleta y la cámara Polaroid®.

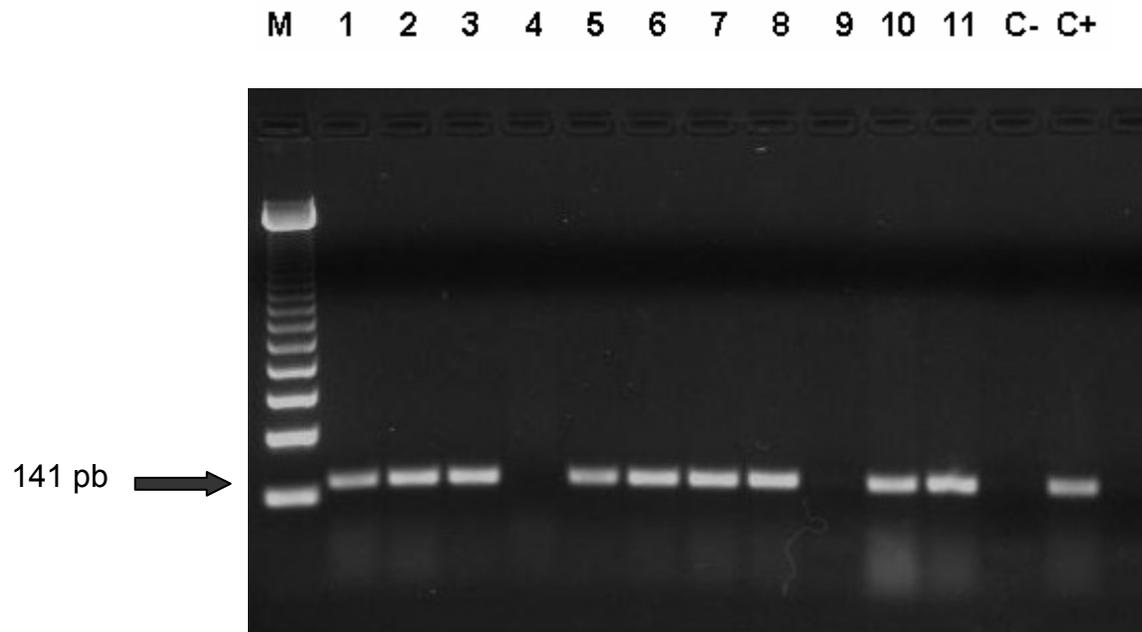


Figura 8. Amplificación del gene SHV por PCR. Carril 1, Marcador de peso molecular de 123 pares de bases (pb). Carriles 2, 3, 4, 6, 7, 8 y 9 PCR de los 9 aislados con amplificación positiva para SHV (amplicón de 141 pb) carriles 5 y 10, aislados con amplificación negativa. Carril 13 control negativo de reactivos y carril 14 control positivo.

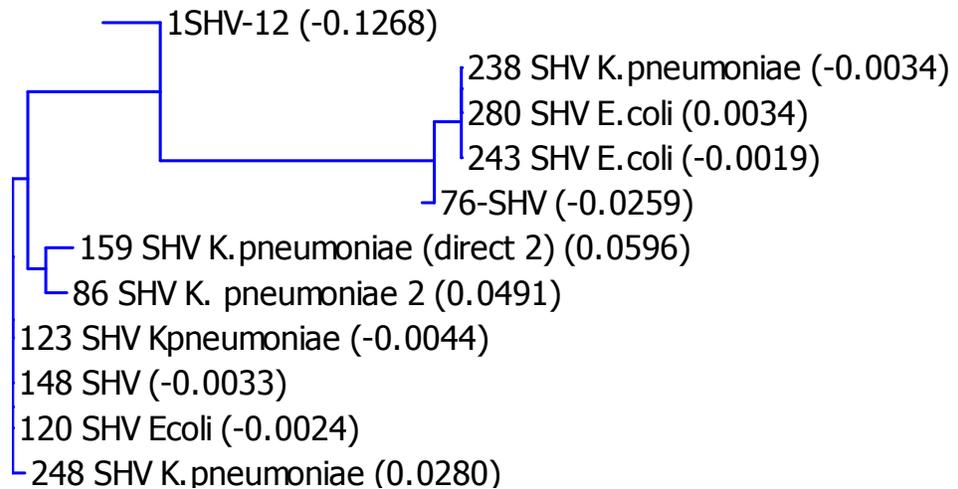


Figura 9. Dendrograma de las beta-lactamasas encontradas en 9 aislados clínicos. Se observan las cepas 159, 86, 123, 148, 120 y 248 iguales a la secuencia consenso 1SHV-12. Las cepas 238, 280 y 243 son iguales a la secuencia consenso 76-SHV (dendograma producido con el programa VECTOR NTI Advanced V. 10.3).

