



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

CURSO DE ESPECIALIDAD EN INFECTOLOGÍA

**COMPARACIÓN ENTRE LA PRUEBA COLORIMÉTRICA
ESBL NDP Y VITEK PARA LA DETECCIÓN DE
ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE
BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN
MUESTRAS URINARIAS EN UN CENTRO DE ALTA
PREVALENCIA DE BLEE. ESTUDIO PILOTO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

SUBESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA

PRESENTA:

DR. DAVID HUMBERTO MARTÍNEZ OLIVA

DRA. ANA PATRICIA RODRÍGUEZ ZULUETA

ASESOR DE TESIS



CIUDAD DE MÉXICO

2017



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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

**COMPARACIÓN ENTRE LA PRUEBA COLORIMÉTRICA ESBL NDP Y
VITEK PARA LA DETECCIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS
DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN MUESTRAS
URINARIAS EN UN CENTRO DE ALTA PREVALENCIA DE BLEE.
ESTUDIO PILOTO.**

Dra. Ana Patricia Rodríguez Zulueta
Presidente de Tesis
Instituto Nacional de Cancerología

Dra. Sylvia Verónica Villavicencio Valencia
Subdirectora de Educación Médica
Instituto Nacional de Cancerología

Dr. David Humberto Martínez Oliva
Médico Residente de Segundo Grado Infectología
Autor
Instituto Nacional de Cancerología

INDICE

Título.....	4
Resumen.....	5
Glosario.....	6
Equipo de investigación.....	7
Marco de referencia.....	8
Preguntas de investigación y justificación	11
Objetivo, hipótesis, diseño	12
Materiales y métodos	13
Resultados.....	19
Discusión.....	23
Conclusiones.....	23
Bibliografía.....	24

TÍTULO

**COMPARACIÓN ENTRE LA PRUEBA COLORIMÉTRICA ESBL NDP Y
VITEK PARA LA DETECCIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS
DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN MUESTRAS
URINARIAS EN UN CENTRO DE ALTA PREVALENCIA DE BLEE.
ESTUDIO PILOTO.**

DR. DAVID HUMBERTO MARTÍNEZ OLIVA

RESUMEN

Palabras clave: ITU, β -lactamasas de espectro extendido, Prueba colorimétrica, prueba rápida.

Antecedentes: *E. Coli* BLEE tiene alta prevalencia en Infecciones de tracto urinario (UTI) en nuestro centro; la detección temprana de BLEE es necesaria para tratamiento adecuado y evitar uso de carbapenemicos.

Objetivo: Utilidad de la prueba colorimétrica (BLEE Test) en muestras de orina.

Métodos: En 2017 se analizaron 50 muestras de orina; en una primera etapa 30 urocultivos, elegidos al azar, se realizó BLEE test protocolo NDP de orina directa y se compararon los resultados con sistema VITEK®; el protocolo consistió en 3 tubos de orina centrifugada y adicionada con buffer de lisis, solución rojo fenol, como indicador colorimétrico (tubo A), cefotaxima a concentración de 6 mg/ml (tubo B) y tazobactam a 40 mg/ml (tubo C); 15 minutos después de incubación a 37° se interpretó (imagen 1,). En una segunda etapa, 20pacientes con síntomas de ITU, se les aplicó cuestionario de variables clínicas y se realizó BLEE Test, a las variables se asignó valor de 1 punto, incluido fiebre y edad > 65 años; se consideró como punto de corte para riesgo de BLEE un puntaje de 4 o más de acuerdo a promedio. Los resultados se analizaron con estadística descriptiva.

Resultados: De las 50 muestras, 23 fueron positivas (47.9%), 15 con BLEE con identificación por VITEK® y de estas 13 por BLEE TEST (sensibilidad 72%/ VPP 76%); 8 negativas por VITEK y 5 por BLEE Test (Especificidad 80%/ VPN 76%). 22 urocultivos sin desarrollo y 3 contaminados, de los cuales por BLEE Test 5 positivos, 16 negativos y 1 indeterminada. En los 20 pacientes entrevistados, 8 Urocultivos positivos, 6 tanto en VITEK como en BLEE Test, 1 negativo en VITEK y en BLEE Test y 1 BLEE Test falso positivo; 6 urocultivos sin desarrollo, 5 con BLEE test negativa y 1 positiva, 2 muestras contaminadas.

Discusión: Los pacientes positivos en VITEK presentaron mayor puntaje. El número de pacientes incluidos en valoración clínica es insuficiente para análisis estadístico. La prueba emitió color naranja en los tubos B y C cuando presentaron AmpC en VITEK. El costo promedio por prueba es 6 dólares, y su sensibilidad y especificidad es menor a lo reportada.

Conclusión: La prueba BLEE test NDP en muestras directas de orina es una herramienta útil en relación al costo y tiempo de proceso, sin embargo, se requieren más estudios para determinar su utilidad clínica.

GLOSARIO (DICCIONARIO TERMINOLÓGICO)

Enterobacteria: Cualquier microorganismo perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*; para fines de este estudio nos referiremos a *Escherichia coli* y *Klebsiella spp*

BLEE: Beta lactamasa de espectro extendido

Microorganismo productor de BLEE: Microorganismos de la familia de enterobacterias que, dentro de sus mecanismos intrínsecos o inducibles de resistencia, se encuentra la producción de beta lactamasas de espectro extendido y que, en el antibiograma, queda definida por la resistencia a cefotaxima o ceftazidima (ambas, cefalosporinas de tercera generación)

Microorganismo productor de AmpC: Microorganismos de la familia de enterobacterias que, dentro de sus mecanismos intrínsecos o inducibles de resistencia, se encuentra la producción de cefalosporinasas de clase AmpC (codón, trasposoma) y que, en el antibiograma queda definida por la resistencia a cefoxitina.

MDR: Multidrogorresistencia, es la resistencia de un microorganismo a 2 o más antibióticos de diferentes grupos.

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

Investigador principal: Dr. David Humberto Martínez Oliva. Residente de Infectología INCan – Gea (correo electrónico: dr.davidhmo@gmail.com)

Investigador asociado y Tutor: Dra. Ana Patricia Rodríguez Zulueta. Departamento de Infectología Hospital General “Dr. Manuel Gea González”

Dr. Rigoberto Hernández Castro

QFB David Moncada Barrón

QFB Sara Arroyo Escalante

Dra. Renate Victoria Álvarez Wyssmann

Dra. Sofía Vera Olguín

Dra. Andrea Cárdenas Ortega

Médico de protocolo: Dr. David Humberto Martínez Oliva

Sede de la Investigación

Hospital General “Dr. Manuel Gea González” – Departamento de Urgencias y Laboratorio de Microbiología

MARCO DE REFERENCIA

E. coli representa el 70 – 80 % de los urocultivos positivos en pacientes con ITU, seguida de *Klebsiella* spp con un 15 a 20% de los aislados. La incidencia de ITU por *E. coli* varía en el mundo, desde 16.0 casos por 100'000 (Europa del este) hasta 17.6 casos por 100'000 (Estados Unidos y Canadá).

La incidencia de enterobacterias resistentes (Incluidas las productoras de BLEE) en urocultivos se reporta entre 1.6 y 2.5% en Norteamérica y entre 5.8 y 8.9% en España y otros países europeos. De igual forma, la tasa de resistencias reportadas a ciprofloxacino y TMP/SXZ va del 15 al 50%.

En Latinoamérica, se estima que el 40% de las mujeres y el 12% de los hombres tendrán al menos un episodio de ITU a lo largo de la vida. En un estudio retrospectivo en Colombia de 2'124 pacientes con ITU, el 68.5% de los aislamientos fueron por *E. coli*, de estos, 12.5% fueron productoras de BLEE. En un estudio retrospectivo en México, de pacientes con ITU, se encontró una prevalencia del 15.7% de *E. coli* BLEE en los urocultivos mientras que, en un estudio realizado en el Hospital General Dr. Manuel Gea González, la prevalencia alcanzada entre los pacientes con infecciones de tracto urinario fue de alrededor del 80% (Figura 1)

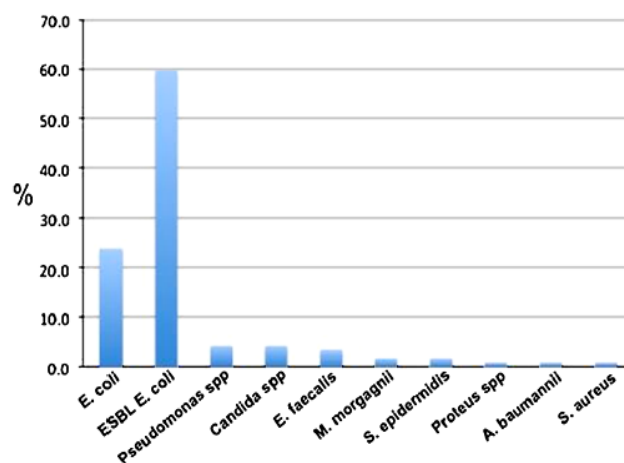


Figura 1: Prevalencia de BLEE en el Hospital Gea González

En el año 2000, con la emergencia de microorganismos MDR, iniciaron estudios para valorar factores de riesgo predictores de infecciones por los mismos. Un estudio retrospectivo en EEUU con 435 pacientes con ITU, reportó en el análisis multivariado, tres factores asociados a resistencias

1. Uso de catéter urinario (OR 2.6, IC 95%)
2. Edad mayor a 65 años (OR 3.0, IC 95%)
3. Uso de antibióticos en los 3 meses previos (OR 4.6, IC 95%)

Once años después, Tumbarello y colaboradores, analizaron una cohorte retrospectiva de 339 pacientes italianos, con el fin de validar una escala de predictores clínicos, en pacientes con cultivos positivos con *E. coli*, *Klebsiella* spp. y *Proteus mirabilis* productores de BLEE (113 vs 226 controles negativos) en cultivos urinarios (66.7%), hemocultivos (16.8%) y otros; encontrando en el análisis multivariado, que los factores asociados a aislamiento de estos microorganismos fueron:

1. Hospitalización previa (últimos 12 meses) [OR 5.69 IC 95% (2.94 – 10.99) $p < 0.001$]
2. Proveniencia de otro centro de cuidados de la salud [OR 5.61 IC 95% (1.65 – 19.08) $p < 0.006$]
3. Índice de comorbilidad de Charlson > 4 [OR 3.80 IC 95% (1.90 – 7.59) $p < 0.001$]
4. Terapia previa con beta lactámicos o fluoroquinolonas (3 meses previos) [OR 3.68 IC 95% (1.96– 6.91) $p < 0.001$]
5. Historia de cateterización urinaria (30 días previos) [OR 3.52 IC 95% (1.96 – 6.91) $p < 0.001$]
6. Edad mayor a 70 años [OR 3.20 IC 95% (1.79 – 5.70) $p < 0.001$]

De acuerdo al puntaje establecido para cada variable aplicada, encontraron en su escala valores predictivos positivos y negativos cercanos al 100% con los puntajes máximos (12 o más) y mínimos respectivamente.

Estudios realizados posteriormente, tratando de validar escalas de predictores clínicos en Estados Unidos han encontrado una asociación de las mismas variables que el estudio italiano y además de infección urinaria recurrente (pielonefritis), así como de inmunosupresión vinculada al consumo crónico de corticoesteroides. A partir de dichos estudios, queda clara la asociación de los factores clínicos descritos que predicen infecciones por bacterias productoras de BLEE, siendo variables los resultados en los diferentes centros, pero comunes las variables descritas originalmente por Tumbarello.

En 2012 y 2014, Nordmann y su equipo, publicaron los resultados de estudios experimentales, en el que demuestran la utilidad de la prueba colorimétrica, para la detección rápida de enterobacterias productoras de BLEE en muestras urinarias (ESBL-NDP) con valores predictivos, positivo del 98% y negativo del 99.8%.

En las siguientes tablas se presentan los dos modelos de puntuación (escalas) previamente descritos

Modelo de puntuación de Tumbarello et al.

Variable	Número de puntos
Tratamiento reciente con β -lactámicos y/o fluoroquinolonas	2
Hospitalización previa	3
Transferencia de otra institución de salud	3
Puntuación de comorbilidad de charlson >4	2
Historia reciente de cateterización urinaria	2
Edad mayor a 70 años	2

Modelo de puntuación de Duke

Variable	Número de puntos
Tratamiento reciente con β -lactámicos y/o fluoroquinolonas	3
Hospitalización previa	2
Transferencia de otra institución de salud	4
Historia reciente de cateterización urinaria	5
Inmunosupresión	2

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Es útil (rentable) la prueba colorimétrica para la detección de microorganismos productores de BLEE en muestras urinarias de pacientes con infección de tracto urinario?

JUSTIFICACIÓN

La incidencia de infecciones de tracto urinario por microorganismos BLEE se encuentra en incremento; en el mundo, se reportan tasas de entre 2 y 12% entre los aislamientos urinarios. De estos, *E. coli* representa el 70 a 80% de los casos, seguida de *K. pneumoniae*.

Son múltiples los factores relacionados al riesgo de infecciones por dichos microorganismos y se han estudiado ampliamente en múltiples cohortes de pacientes con criterios clínicos de infección de tracto urinario; de estos los factores o variables que destacan, son: el uso previo de antibióticos (sobre todo los últimos 3 meses), hospitalización previa (en el último año), portar catéter urinario, infecciones urinarias recurrentes, edad mayor a 65 años y algunos estados de inmunosupresión (uso de corticosteroides sistémicos principalmente).

Las opciones terapéuticas en el contexto de infecciones por bacterias resistentes se limitan en muchos de los casos a uso de antimicrobianos de amplio espectro, sobretodo carbapenémicos, ya que la resistencia a otros antibióticos recomendados como fluoroquinolonas y trimetoprim con sulfametoxazol, también se encuentra en incremento. Actualmente existen métodos colorimétricos para la detección temprana de cepas productoras de BLEE en muestras urinarias que han demostrado alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico, y que se anticipan a los sistemas automatizados, permitiendo el ajuste de antimicrobianos previo a la identificación y susceptibilidad del microorganismo.

OBJETIVO

Determinar la utilidad (rentabilidad), con base en sensibilidad, especificidad y valores predictivos, del método colorimétrica para la detección de enterobacterias productoras de BLEE en muestras urinarias de pacientes con infección de tracto urinario.

HIPÓTESIS

La prueba colorimétrica es una herramienta útil, sensible y específica para la detección anticipada de enterobacterias BLEE en muestras urinarias de pacientes con infección de tracto urinario, fundamentado en estudios previos, lo cual la convierte en un método diagnóstico confiable y no inferior al estándar.

DISEÑO

Estudio observacional y analítico. Prospectivo. Longitudinal. De casos y controles

MATERIALES Y MÉTODO

Universo y población de estudio

Pacientes, hombres y mujeres, mayores de 18 años de edad que ingresen al servicio de urgencias del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” entre los meses de enero a marzo de 2017 con síntomas y signos clínicos de infección de tracto urinario, definidos de acuerdo a criterios internacionales de diagnóstico clínico (SEU/IDSA)

Muestra

Estudio piloto. De acuerdo a un análisis previo, de muestras de urocultivo en pacientes hospitalizados y de urgencias, durante el mes de agosto de 2016 en el laboratorio de microbiología del Hospital General Dr. Manuel Gea González”; se obtuvieron 210 muestras, de las cuáles 47 resultaron positivas por el sistema Vitek (17 con *E. coli*/*Klebsiella* spp BLEE y 30 con otros microorganismos), se estima una muestra de +/- 150 pacientes con muestra para Urocultivo.

El grupo de los pacientes urocultivo positivo y prueba colorimétrica positiva para microorganismo BLEE, será comparado con aquellos con urocultivo positivo, pero con prueba negativa para microorganismo BLEE (grupo control), se estima una muestra de pacientes 1:2, con asignación secuencial de acuerdo al resultado.

Criterios de selección

Inclusión

- Hombres y mujeres mayores de 18 años de edad
- Síntomas y signos clínicos de infección de tracto urinario (cistitis, pielonefritis), independientemente de la gravedad

- Pacientes que completen el cuestionario de datos demográficos y factores de riesgo
- Muestra de urocultivo previa al inicio de antibiótico

Exclusión

- Menores de 18 años de edad
- Que no hayan completado cuestionario
- Inicio de antibiótico previo a recolección de muestra de urocultivo

Eliminación

- Muestra contaminada (definida por la presencia de dos o más microorganismos, incluidos aquellos que son biota normal de la piel)
- Urocultivo negativo
- Bacteriemia documentada, por microorganismo diferente al aislado en urocultivo

Definición de variables

Variable 1 (dependiente) Variable 2 (independiente)

Prueba colorimétrica positiva (indicador de microorganismo productor de BLEE)

Nominal (Positiva o negativa)	Identificación por sistema Vitek (E. coli o Klebsiella spp productora de BLEE)
	Nominal (BLEE – no BLEE)

Descripción de procedimientos

1. Ingreso del paciente al departamento de Urgencias
2. Identificación de síntomas y signos clínicos de infección de tracto urinario, basado en los criterios clínicos de IDSA/SEU (médico de protocolo)
3. Aplicación de cuestionario de datos demográficos y factores de riesgo, previa firma del consentimiento informado (se anexa formato al final)

4. Solicitud y toma de urocultivo previo a prescripción de antibiótico (médico de protocolo, médico de Urgencias)
5. Procesamiento de la muestra de manera habitual en el Laboratorio de microbiología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”
6. Realización de la prueba colorimétrica en muestras positivas (colonias obtenidas de la placa de agar en incubación)
7. Seguimiento y registro de los resultados definitivos, analizados con el sistema de identificación y susceptibilidad Vitek (48 a 72 horas después)
8. Registro de los datos obtenidos en base de datos generada en Excel (Investigador principal y médico de protocolo)
9. Análisis de los datos en SPSS. Comparación entre las variables.

Descripción del procedimiento para la prueba colorimétrica (método simplificado, del protocolo NDP)

1. Obtención de 4.5 ml de cada muestra de orina por paciente
2. Tres tubos Eppendorf (A, B y C), cada uno con 1.5 ml de orina
3. Primera centrifugación a 13,000 X g por 2 minutos – se elimina el sobrenadante
4. Resuspensión del centrifugado en 500 microlitros de agua destilada estéril
5. Segunda centrifugación a 13,000 X g por 2 minutos – se elimina el sobrenadante (etapa de “lavado”)
6. Resuspensión del centrifugado en 100 microlitros de buffer lítico Tris-HCl BIPER-II
7. Tubo A (control) – 100 microlitros de solución R (indicador rojo fenol)

8. Tubos B – 100 microlitros de solución R + cefotaxima a concentración de 6 mg/ml
9. Tubo C – 100 microlitros de solución R + cefotaxima a concentración de 6 mg/ml + 10 microlitros de solución de Tazobactam (dilución 40 mg/ml)
10. Incubación a 37°C por 15 minutos
11. Lectura de la prueba (Figura 2):
 - a. Tubos A, B y C en color rojo: prueba negativa o aislado no productor de BLEE
 - b. Tubo A rojo, Tubo B amarillo/naranja, tubo C rojo: prueba positiva con aislado productor de BLEE
 - c. Tubo A rojo, Tubos B y C amarillo/naranja: prueba positiva con aislado productor de cefalosporinasas o productor de BLEE + cefalosporinasas (amp C)
 - d. Tubos A, B y C color amarillo/naranja: no interpretable o indeterminada

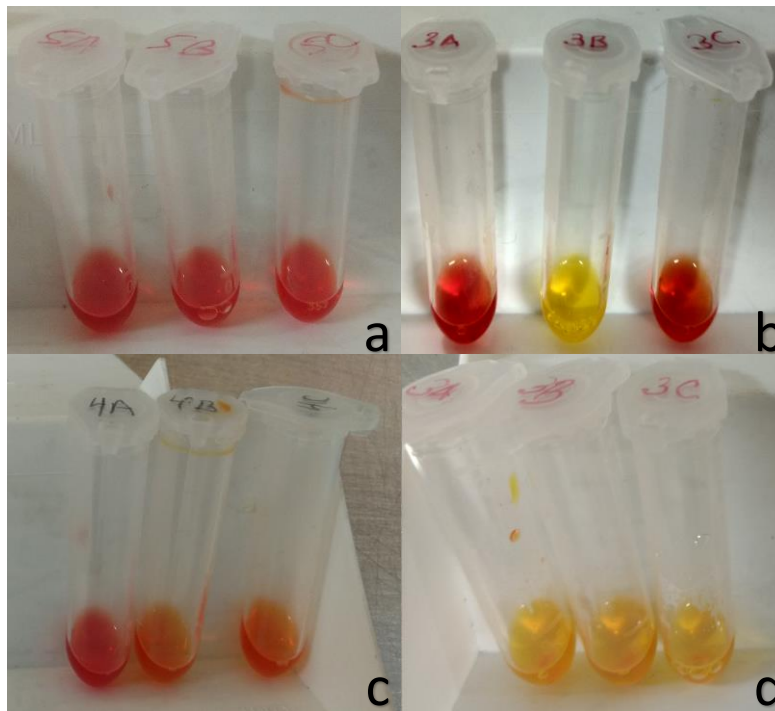


Figura 2. Lectura de prueba colorimétrica (ver texto)

Recursos humanos

El investigador principal supervisará la selección de pacientes, aplicación de cuestionarios y procesamiento de las muestras en un tiempo asignado de 6 a 8 horas de lunes a viernes durante el periodo de obtención de la información; asimismo, será el encargado de realizar oportunamente las pruebas colorimétricas y reportar los resultados.

El médico de protocolo será el encargado de seleccionar pacientes en el Departamento de Urgencias, así como de la aplicación de los cuestionarios, recolección y registro de datos, siempre bajo la supervisión y capacitación del Investigador Principal y Tutor de Tesis.

Los médicos que forman parte del personal de atención en el Departamento de Urgencias apoyarán con la solicitud, recolección y envío de las muestras para urocultivo, de acuerdo a los procedimientos establecidos por el Servicio y con el apoyo y supervisión del Investigador principal y médico de protocolo.

Las muestras serán procesadas y reportadas de manera habitual, por el personal del Laboratorio de microbiología del hospital, de acuerdo a los lineamientos establecidos por el Departamento, y con previa información de la realización de esta investigación.

Recursos materiales

1. Papelería: fotocopias del formato de cuestionario de datos y factores de riesgo y del consentimiento bajo información para los pacientes, bolígrafos y lápices para el llenado
2. Prueba colorimétrica: tubos plásticos, pipetas, agua destilada estéril, cefotaxima (sal), tazobactam (sal), rojo fenol como indicador colorimétrico
3. Materiales de consumo habitual para el procesamiento de muestras urinarias para cultivo

Análisis estadístico

Los resultados serán analizados en SPSS, se utilizará prueba de Chi cuadrada para el análisis de las variables nominales, y se calculará la sensibilidad, especificidad y valores predictivos, de acuerdo a los resultados de correlación entre la prueba colorimétrica y el emitido por el sistema Vitek.

Los resultados se presentarán en tablas y gráficas de barras. El análisis de los datos demográficos y de factores de riesgo en tablas que expresen medias y porcentajes (edad, género, etc).

Consideraciones éticas

Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley Genral de Salud en materia de Investigación para la Salud:

Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado

El llenado del cuestionario y el permiso para procesar la muestra se realizó bajo consentimiento informado

Todos los procedimientos fueron sometidos y aprobados ante el comité de ética hospitalario

Conflicto de interés

No existe conflicto de interés ya que la prueba colorimétrica se realizará de acuerdo a protocolos descritos, con recursos locales.

RESULTADOS

Estudio observacional, prospectivo, realizado durante el primer cuatrimestre de 2017. Se analizaron un total de 50 muestras urinarias; en una primera etapa 30 muestras de urocultivo, elegidas al azar (pruebas piloto), sin evaluación de datos clínicos, se realizó prueba colorimétrica BLEE, siguiendo el protocolo NDP directamente de orina [3] y se compararon los resultados con sistema VITEK®; el protocolo consiste en obtener 3 tubos con orina previamente centrifugada y adicionada con buffer de lisis, y agregar solución rojo fenol a pH de 8.0 como indicador colorimétrico (tubo A), cefotaxima a concentración de 6 mg/ml (tubo B) y tazobactam a 40 mg/ml (tubo C); la interpretación de los resultados se hace después de 15 minutos de incubación a 37°C. En una segunda etapa, se entrevistaron 20 pacientes, previo consentimiento informado, con síntomas de ITU, que ingresaron al departamento de Urgencias, a quienes se les aplicó un cuestionario de variables clínicas de riesgo ya descritas en la literatura, y se les realizó prueba colorimétrica BLEE NDP, se compararon los resultados con los emitidos por VITEK®, dicha etapa continúa vigente. Las variables clínicas incluidas fueron: 1) Edad mayor o igual a 65 años, 2) hospitalización durante el año previo, 3) uso de antimicrobianos en los 6 meses previos, 4) infecciones recurrentes de tracto urinario, 5) uso reciente de sonda urinaria y 6) algún estado de inmunosupresión (diabetes mellitus, infección por VIH, uso de corticosteroides sistémicos, neoplasia sólida o hematológica, trasplante de órgano sólido o de Células hematopoyéticas), a las cuales se les asignó valor de 1 punto, también se asignó 1 punto a la presencia de fiebre como manifestación sistémica de infección; se consideró como punto de corte para riesgo de BLEE un puntaje menor, o igual/mayor a 4 de acuerdo al promedio. Los resultados se registraron en una base de datos en Excel versión 15.3 y el análisis se realizó por estadística descriptiva.

De un total de 50 muestras analizadas, 30 fueron piloto y 20 de pacientes a quienes se aplicó cuestionario de factores de riesgo; 23 urocultivos se reportaron positivos (47.9%) con identificación por el sistema VITEK®, 22 muestras sin desarrollo de microorganismos (45.8%) y 3 se reportaron como contaminadas

(6.25%). De los 23 urocultivos positivos, 15 se identificaron por VITEK con microorganismos productores de BLEE (65.2%) y de estos, 13 muestras fueron positivas en la BLEE Test; 8 urocultivos se identificaron con microorganismos no productores de BLEE (negativos) en VITEK (34.7%), 4 de ellos fueron negativos en la BLEE Test. En cuanto a las 22 muestras de orina sin desarrollo de microorganismos, 5 resultaron con BLEE Test positiva y 16 negativas, solo 1 indeterminada; 2 de las 3 muestras contaminadas fueron negativas a la BLEE Test y 1 indeterminada. En las figuras 3 y 4 se esquematiza la organización en ambas etapas.

Los resultados de las pruebas en los 20 pacientes entrevistados, fueron los siguientes: 6 pruebas (33.3%) resultaron positivas y concordantes con los resultados del urocultivo en VITEK® (se aislaron 5 *E. coli* y 1 *K. pneumoniae*), no se encontraron bacterias con patrón de resistencia Amp C; 8 pruebas negativas (44.4 %), de las cuales 5 no mostraron desarrollo de microorganismos en Urocultivo, 1 con aislamiento de *C. albicans* Y 2 se reportaron como muestras contaminadas; 2 pruebas (11.1%) con resultados falsos positivos (1 de ellas sin desarrollo en urocultivo y otra con *E. coli* susceptible a cefalosporinas); finalmente 2 pruebas (11.1%) resultaron indeterminadas en la lectura colorimétrica (1 sin desarrollo de microorganismos y 1 muestra contaminada). Las características y resultados de los pacientes se describen en la Tabla 1.

De la lectura de los resultados observamos que, 2 de las muestras positivas inicialmente se habían encontrado indeterminadas (lectura a los 15 minutos) debido a la alta carga bacteriana, sin embargo, en una segunda lectura, posterior a las 2 horas, resultaron positivas para BLEE, por lo que es probable que, particularmente las muestras muy concentradas, requieran mayor tiempo de observación. La prueba colorimétrica emitió color naranja en los tubos B y C, cuando por VITEK presentaron patrón de resistencia AmpC.

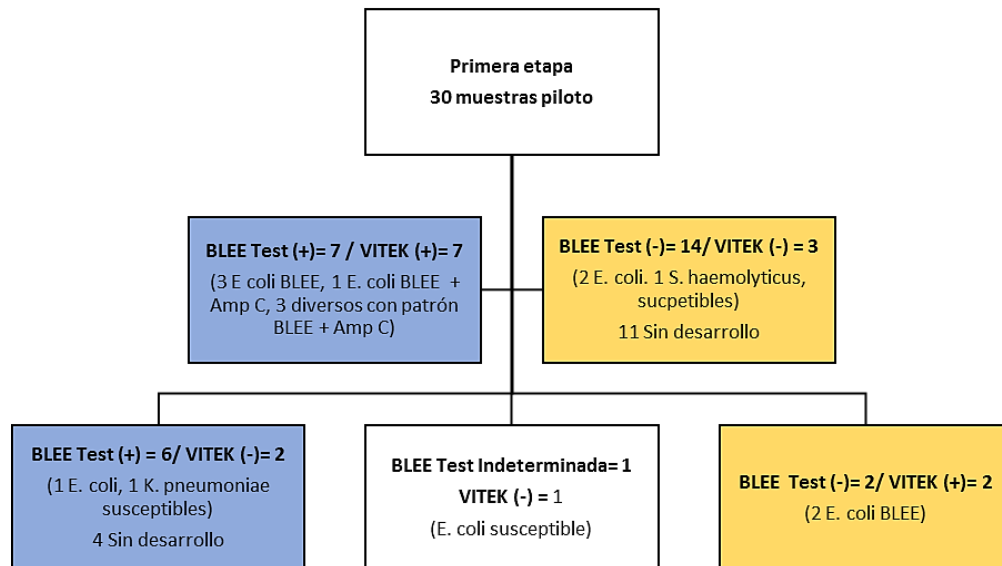


Figura 3. Esquema de resultados primera etapa (ver texto)

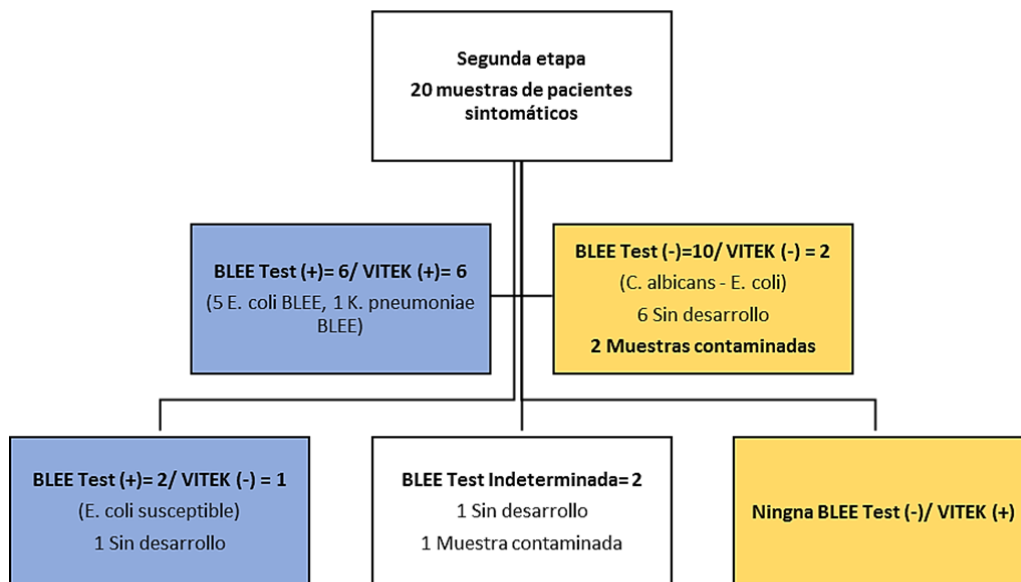


Figura 3. Esquema de resultados segunda etapa (ver texto)

Tabla 1. Características de los pacientes con ITU con resultado positivo o negativo en prueba colorimétrica en orina, n= 20 (16 concordantes, 2 falsos + y 2 indeterminados)

	BLEE Test Positiva	BLEE Test Negativa
Género		
Femenino	3/6	6/10
Masculino	3/6	4/10
Edad en años – promedio (rango)	54 (27 – 74)	48.4 (23 – 86)
Síntomas		
Irritativos	6/6	9/10
Fiebre	5/6	5/10
Factores de riesgo		
Hospitalización (últimos 12 meses)	2/6	4/10
Uso de antibióticos (hasta 6 meses previos)	4/6	7/10
ITU (episodios en el último año)	4/6	7/10
Uso de sonda urinaria	2/6	2/10
Estado de inmunosupresión *	5/6**	7/10***
Puntaje – promedio (rango)++	4 (2 – 6)	3.4 (2 – 5)
Resultado en VITEK®		
<u>E. coli/ Klebsiella spp</u> NO BLEE	-	1
<u>E. coli</u> BLEE	5	-
<u>K. pneumoniae</u> BLEE	1	-
Sin desarrollo en Urocultivo	-	6
Muestra contaminada	-	2
Otro	-	1~~

ITU: infección de tracto urinario

* Estado de inmunosupresión: se tomaron los siguientes: infección por VIH, DM diabetes mellitus, uso de corticoesteroides sistémicos, pos-transplante de órgano sólido o células hematopoyéticas, neoplasia de órgano sólido o hematológica

** 5 pacientes con historia de diabetes mellitus

*** 5 pacientes con historia de diabetes mellitus, 1 con infección por VIH y 1 con Ca gástrico

~~ Candida albicans

++ Puntaje: suma de cada punto de los factores clínicos de riesgo + 1 punto en caso de fiebre + 1 punto edad igual o mayor a 65 años.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

En nuestro estudio encontramos una sensibilidad del 72% y especificidad del 80% de la prueba BLEE Test NDP de acuerdo a los resultados de VITEK, lo cual es menor a lo reportado en la literatura (Tabla 4x4). Del grupo de 20 pacientes con variables clínicas, se encontró una sensibilidad del 83% de predicción para microorganismos BLEE a partir de 4 puntos o más en los factores de riesgo, observándose que, los pacientes con infección de tracto urinario en quienes la prueba resultó positiva, tienen mayor edad y presentan mayor uso previo de antimicrobianos e inmunosupresión, particularmente diabetes mellitus; no se encontraron resultados falsos negativos con los reportados en el laboratorio de microbiología en los pacientes sintomáticos.

La prueba ESBL NDP realizada en muestras directas de orina para detección de BLEE tiene menor sensibilidad y especificidad que lo reportado para el sistema VITK para estos microorganismos, y no es superior a la evaluación clínica de factores de riesgo; sin embargo, puede ser una herramienta útil en los pacientes con síntomas urinarios, ya que además su costo es accesible. Es prioritario contar con herramientas clínicas y o laboratorio que aseguren un tratamiento adecuado y eviten el uso indiscriminado de antimicrobianos de amplio espectro, por lo que se requieren más estudios para estandarizar este tipo de pruebas.

Tabla de 4 x 4 de los resultados de VITEK y BLEE Test en Urocultivos positivos, n =24 (+ = BLEE/ - = no BLEE) S 72.2%, E 80%, VPP 76.4%, VPN 76.1%.			
	VITEK +	VITEK -	TOTAL
BLEE Test +	13	4	17
BLEE Test -	5	18	23
TOTAL	18	22	

BIBLIOGRAFÍA

Tumbarello M, Trecarichi EM, Bassetti M, Giuseppe De Rosa F, Spanu T, Di Meco E, et al. **Identifying Patients Harboring Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* on Hospital Admission: Derivation and Validation of Scoring System.** *Antimicrob Agents and Chemother* 2011; **55(7)**: 3485-3490.

Johnson SW, Anderson DJ, May B, Drew RH. **Utility of a Clinical Risk Factor Scoring Model in Predicting Infection with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* on Hospital Admission.** *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013; **34(4)**: 385-392.

Nordmann P, Dortet L, Poirel L. **Rapid Detection of Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*.** *Journ of Clin Microbiol* 2012; **50(9)**: 3016-3022.

Dortet L, Poirel L, Nordmann P. **Rapid Detection of Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* from Urinary Samples by Use of the ESBL NDP Test.** *Journ of Clin Microbiol* 2014; **52(10)**: 3701-3706.

Ramadan El-Jade M, Parcina M, Schmithausen RM, Stein C, Meilaender A, Hoerauf A, et al. **ESBL Detection: Comparison of a Commercially Available Chromogenic Test for Third Generation Cephalosporine Resistance and Automated Susceptibility Testing in *Enterobacteriaceae*.** *Plos One* 2016; **11(8)**: 1-13

Rendón-Medina MA, Reyes-Arcos A, Rosas-Bello JB, Rodríguez-Weber F. **Infecciones de vías urinarias. Patrón de resistencia *in vitro* de *E. coli* y *E. coli* ESBL a quinolonas, trimetoprima-sulfametoxazol y nitrofurantoína.** *Med Inte Mex* 2012; **28(5)**: 434-439.

Goodman KE, Lessler J, Cosgrove SE, Harris AD, Lautenbach E, Han JH, et al. **A Clinical Decision Tree to Predict Whether a Bacteremic Patient Is Infected With an Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing Organism.** *Clin Infect Dis* 2016; 1-8

Pickard R, Bartoletti R, Bjerklund TE, Bonkat G, Bruyère F, Cek M, et al. **EAU-Guidelines on Urological Infections.** *European Association of Urology* 2016; 1-16

Dickstein Y, Geffen Y, Andreassen S, Leibovici L, Paul M. **Predicting Antibiotic Resistance in Urinary Tract Infections Patients with Prior Urine Cultures.** *Antimicrob Agents and Chemother* 2016; **60(8)**: 4717-4721.

Arana D, Rubio M, Alós JL. **Evolution of antibiotic multiresistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from urinary tract infections: A 12-year analysis (2003-2014).** *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2016; 1-6.