



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE  
TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO  
Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**“EVALUACIÓN DE UN NUEVO MÉTODO FENOTÍPICO PARA LA  
DETECCIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO  
EXTENDIDO EN *ENTEROBACTERIAS* AISLADAS DE  
UROCULTIVOS DEL HOSPITAL NACIONAL DOCENTE MADRE  
NIÑO SAN BARTOLOMÉ, LIMA 2017”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO TECNÓLOGO  
MÉDICO EN EL ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y  
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**AUTOR:**

**Bach. ESTHEFANY YULEISSI SALAZAR GONZALES**

**ASESOR:**

**Mg. CÉSAR RAMIREZ FONTELA**

**2018**

# HOJA DE APROBACIÓN

BACHILLER ESTHEFANY YULEISSI SALAZAR GONZALES

**“EVALUACIÓN DE UN NUEVO MÉTODO FENOTÍPICO PARA LA  
DETECCIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO  
EXTENDIDO EN *ENTEROBACTERIAS* AISLADAS DE  
UROCULTIVOS DEL HOSPITAL NACIONAL DOCENTE MADRE  
NIÑO SAN BARTOLOMÉ, LIMA 2017”**

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del Título de  
Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico  
y Anatomía Patológica por la Universidad Alas Peruanas

---

---

---

LIMA – PERÚ

2018

Se dedica este trabajo:

Este trabajo va dedicado en primer lugar a Dios por iluminar y guiar mi camino, a mis padres por su motivación constante y ejemplo de perseverancia y amor, a mi hermana por ser parte importante en mi vida y a mi abuelo por siempre brindarme su apoyo y confianza.

Se agradece por su contribución para el desarrollo de esta Tesis:

A mi asesor Mg. César Ramirez Fontela, por todo su apoyo, dedicación y tiempo en la elaboración de mi tesis , al Lic. TM Javier Soto Pastrana por su dedicación, tiempo y paciencia durante la ejecución de mi tesis, a la Lic. TM Anita y Técnico de laboratorio, por brindarme un espacio dentro de su ámbito laboral y a todo el personal del área de Microbiología del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé.

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el valor de las pruebas diagnósticas de un nuevo método fenotípico para la detección de betalactamasas de espectro extendido en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos.

**Material y Métodos:** Estudio descriptivo comparativo, prospectivo de corte transversal. Se determinó la presencia y ausencia de BLEE en 176 cepas positivas de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* aislados de urocultivos, que fueron obtenidas del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, mediante un nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima (MICTX) en comparación con el método de referencia Vitek 2 compact . El análisis estadístico fue realizado por IBM SPSS .

**Resultados:** De las 176 muestras, 57 (32,4%) resultaron positivas para BLEE usando el método de referencia Vitek 2 compact . La evaluación del nuevo método fenotípico frente al método de referencia mostró una sensibilidad de 98.2%, especificidad 98.3%, valor predictivo positivo 96.5% y valor predictivo negativo 99.2%.

**Conclusiones:** Se determinó que los valores de las pruebas diagnósticas del nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima (MICTX) fueron óptimas en comparación con el método de referencia, sin presentar diferencias significativas, demostrando ser un método confiable, rentable y de fácil interpretación, que puede ser usado como método alternativo para detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos en el laboratorio clínico.

**Palabras Clave:** Betalactamasa de espectro extendido (BLEE), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, método de inactivación de cefotaxima MICTX, Vitek 2 compact.

## ABSTRACT

**Objective:** To determinate the value of diagnostic tests of a new phenotypic method for the detection of beta- lactamases in *Enterobacteriaceae* isolated from urine culture extended spectrum.

**Material and Methods:** Comparative, descriptive, study prospective cross section. It was determinated presence or absence of ESBL on 176 positive strains of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* isolated from urine culture that were obtained from "Docente Madre Niño San Bartolome" National Hospital, using a new phenotypic method of inactivation of cefotaxime (MICTX) in comparison with the Vitek 2 compact reference method. IBM SPSS performed statistical analysis.

**Results:** 176 samples, 57 (32,4%) were positive for ESBL using the Vitek 2 compact reference method. The evaluation of the new phenotypic method against the reference method showed a sensivity of 98,2 %, specificity 98,3 %, positive predictive value 96,5% and negative predictive value 99,2 %.

**Conclusions:** It was determinated that the values of the diagnostic tests of the new phenotypic method of inactivation of cefotaxime (MICTX) were optimal in comparison with the reference method, without presenting significant differences, proving to be reliable, profitable method and easy to interpret, which can be used as an alternative method for the detection of ESBL in isolated *Enterobacteria* of uroculture in the clinical laboratory.

**Key Words:** Extended spectrum beta-lactamases (ESBL), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, method of inactivation of cefotaxima MICTX, Vitek 2 compact.

## ÍNDICE

CARÁTULA.....	01
HOJA DE APROBACIÓN.....	02
DEDICATORIA.....	03
AGRADECIMIENTO.....	04
RESUMEN.....	05
ABSTRACT.....	06
ÍNDICE.....	07
LISTA DE TABLAS.....	08
LISTA DE GRÁFICOS.....	09
INTRODUCCIÓN.....	10
<b>CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b>	
1.1. Planteamiento del Problema.....	11
1.2. Formulación del Problema.....	13
1.2.1. Problema General.....	13
1.2.2. Problemas Específicos.....	14
1.3. Objetivos.....	15
1.3.1. Objetivo General.....	15
1.3.2. Objetivos Específicos.....	15
1.4. Justificación.....	16
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b>	
2.1. Bases Teóricas.....	18
2.2. Antecedentes.....	37
2.2.1. Antecedentes Internacionales.....	37
2.2.2. Antecedentes Nacionales.....	39
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA</b>	
3.1. Diseño del Estudio.....	40
3.2. Población.....	40
3.2.1. Criterios de Inclusión.....	40
3.2.2. Criterios de Exclusión.....	40
3.3. Muestra.....	40
3.4. Operacionalización de Variables.....	41
3.5. Procedimientos y Técnicas.....	42
3.6. Plan de Análisis de Datos.....	43
<b>CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	
4.1. Resultados.....	44
4.2. Discusión.....	50
4.3. Conclusiones.....	53
4.4. Recomendaciones.....	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ANEXOS.....	61
MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	78

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla N°1:</b> Frecuencia de <i>Enterobacterias</i> según su especie aislada de urocultivos .....	44
<b>Tabla N°2:</b> Frecuencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos .....	45
<b>Tabla N°3:</b> Frecuencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> según su especie aisladas de urocultivos .....	46
<b>Tabla N°4:</b> Punto de corte 1 para el nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX .....	47
<b>Tabla N°5:</b> Punto de corte 2 para el nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX .....	48
<b>Tabla N°6:</b> Sensibilidad y especificidad de un nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX para detección de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos .....	49
<b>Tabla N°7:</b> Valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de un nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX para detección de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos .....	49
<b>Tabla N°8:</b> Concordancia del nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX con el método de referencia Vitek 2 compact .....	50

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico N°1:</b> Frecuencia de <i>Enterobacterias</i> según su especie aislada de urocultivos .....	44
<b>Gráfico N°2:</b> Frecuencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos .....	45
<b>Gráfico N°3:</b> Frecuencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> según su especie aisladas de urocultivos .....	46
<b>Gráfico N°4:</b> Punto de corte 1 para un nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX .....	47
<b>Gráfico N°5:</b> Punto de corte 2 para un nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX .....	48

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones de tracto urinario, son una de las más comunes en el ámbito hospitalario y en la comunidad (1-3). Actualmente padecemos la resistencia bacteriana extendida por todo el mundo. Debido al uso excesivo e inadecuado de antibióticos, estudios realizados reconocen que han contribuido a la emergencia de la resistencia bacteriana. Las infecciones causadas por bacilos Gram negativos(BGN) productores de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) pueden ser graves e incluso mortales(4).

La resistencia mediante la producción de (BLEE) es la resistencia microbiana más común y de importancia en salud pública. Los microorganismos productores de BLEE más frecuentes son los bacilos Gram negativos (BGN), la mayoría pertenece a la familia de *Enterobacteriaceae*, tales como: *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* (5).

Para que se tomen conductas terapéuticas apropiadas, el profesional de laboratorio tiene la responsabilidad de reportar datos relevantes y confiables sobre los hallazgos microbiológicos.

Por lo tanto, es necesario contar con métodos fiables, que permitan un resultado certero, de fácil interpretación y repercutiendo positivamente en los costos de atención, por ende, se consideró determinar el valor de las pruebas diagnósticas de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos.

## CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 Planteamiento del Problema

Las infecciones del tracto urinario (ITU), luego de las respiratorias, son las más frecuentes en el ámbito hospitalario y comunidad general (1-2). Se ha considerado como un problema de salud pública, puesto que la incidencia de ITU se estima en 150 millones de casos por año (3). Además, el uso desmesurado de estos antimicrobianos, la terapia inapropiada, terapias incompletas o prolongado y la no adherencia al tratamiento, han generado un aumento de la resistencia a antimicrobianos (RA) de los microorganismos (4).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la RA es una amenaza cada vez más grave para la salud mundial, en cinco de seis regiones de la OMS se reporta resistencia de *Escherichia coli* (*E. coli*) a cefalosporinas de tercera generación y a fluoroquinolonas mayor a 50%; lo mismo se observa respecto a *Klebsiella Pneumoniae* (*K. Pneumoniae*) en las seis regiones para cefalosporinas de tercera generación (5).

En setiembre del 2016 la Organización de las Naciones Unidas (ONU) adoptó una declaración política para hacer frente al creciente desafío sanitario de la RA, en un evento de alto nivel, donde los Jefes de Estado de 193 países miembros de la organización se comprometieron a adoptar una estrategia de amplio alcance y coordinada para abordar las causas fundamentales de la RA en múltiples sectores (6- 9).

En palabras del presidente de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), Rafael Cantón, "este

pronunciamiento cobra aún más importancia al estimarse que este año morirán 700.000 personas en el mundo por infecciones causadas por bacterias multirresistentes y que, de seguir así, en el 2050, diez millones de personas fallecerán cada año, superando las muertes por cáncer”. A nivel europeo, y con cifras del presidente de la Revista de resistencia a los antimicrobianos Jim O’Neill, las bacterias multirresistentes provocan anualmente 25.000 muertes y un gasto de 1,5 billones de euros (9).

La OMS publicó el 27 de febrero del 2017 una lista de «patógenos prioritarios» resistentes a los antibióticos, en el informe titulado «GLOBAL PRIORITY LIST OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA TO GUIDE RESEARCH, DISCOVERY, AND DEVELOPMENT OF NEW ANTIBIOTICS», en la que se incluyen las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana. Entre tales bacterias se incluyen las siguientes: *Acinetobacter spp*, *Pseudomonas spp*, *Klebsiella spp*, *Escherichia coli*, *Serratia spp*, y *Proteus spp*. Estas bacterias han adquirido resistencia a un elevado número de antimicrobianos, como las cefalosporinas de tercera generación (10-11).

El 20 de setiembre del 2017 la OMS publicó un informe titulado «ANTIBACTERIAL AGENTS IN CLINICAL DEVELOPMENT», el cual revela una grave falta de nuevos antibióticos en fase de desarrollo para combatir la creciente amenaza de la resistencia a los antimicrobianos.

La mayoría de los fármacos que se están desarrollando son modificaciones de clases de antibióticos ya existentes que ofrecen soluciones solamente a corto plazo. En el informe se indica que hay muy pocas opciones

terapéuticas posibles para las infecciones resistentes a los antibióticos señaladas por la OMS como las mayores amenazas para la salud (12-13).

En el Perú, el Ministerio de Salud (MINSA) en el 2012 realizó un “informe de la resistencia antimicrobiana en bacterias de origen hospitalarios”, en la cual, los aislamientos de *Escherichia coli*, tienen resistencia más alta a la ampicilina (88.8%) al igual que el año anterior, igualmente se observó que la resistencia a cefalosporinas de tercera generación supera el 50% (14).

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el valor de las pruebas diagnósticas de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.

## **1.2 Formulación del Problema**

### **1.2.1 Problema General**

¿Cuánto es el valor de las pruebas diagnósticas de un nuevo método fenotípico para la detección de betalactamasas de espectro extendido en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?

### 1.2.2 Problemas Específicos

- ¿Cuánto es la frecuencia de *Enterobacterias* según su especie aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?
- ¿Cuánto es la frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?
- ¿Cuánto es la frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* según su especie aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?
- ¿Cuánto es el punto de corte del nuevo método fenotípico para establecer la presencia o ausencia de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?
- ¿Cuánto es la sensibilidad (S) y especificidad (E) de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?
- ¿Cuánto es el valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?
- ¿Cuánto es la concordancia entre el nuevo método fenotípico y el método de referencia para detección de BLEE en *Enterobacterias*

aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar el valor de las pruebas diagnósticas de un nuevo método fenotípico para la detección de betalactamasas de espectro extendido en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.

#### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar la frecuencia de *Enterobacterias* según su especie aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.
- Determinar la frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.
- Determinar la frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* según su especie aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.
- Determinar el punto de corte del nuevo método fenotípico para establecer la presencia o ausencia de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.
- Determinar la sensibilidad (S) y especificidad (E) de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en *Enterobacterias*

aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.

- Determinar el valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.
- Determinar la concordancia entre el nuevo método fenotípico y el método de referencia para detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.

#### 1.4 Justificación

El uso inapropiado de antimicrobianos está asociado directamente con el incremento de la RA y por ende la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en los microorganismos se ve aumentada, convirtiéndose en una amenaza para la salud pública.

Según el Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI, siglas en inglés) para presumir y confirmar la presencia de BLEE en los aislados de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Proteus mirabilis*; usa pruebas de difusión en agar o de microdilución, actualmente los equipos automatizados se han convertido en una herramienta de apoyo para el diagnóstico y esto debido al aumento de la demanda de muestras en el laboratorio. Los equipos automatizados son capaces de detectar BLEE contando con paneles específicos, y han sido avalados por diversos estudios para estos fines, siempre incluyen los puntos de corte de acuerdo

con las normas del CLSI o el Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana EUCAST. Sin embargo, a pesar de su fiabilidad en los resultados, presenta ciertas desventajas; no es un método rentable; requiere de métodos de respaldo ante la eventualidad de fallas mecánicas que inhabiliten su uso, no existen normas para sistemas automatizados (CLSI) y requiere de personal capacitado para la interpretación de los resultados.

Ante esta imperativa surge la necesidad de implementar un nuevo método que cumpla con dichos parámetros. Se pretende que esta nueva alternativa planteada, logre convertirse en un procedimiento alternativo para detección de BLEE en los laboratorios clínicos, que permite obtener resultados certeros, de fácil interpretación y repercutiendo positivamente en los costos de atención.

Por ende, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar el valor las pruebas diagnósticas de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017, así mismo mejorar la vigilancia epidemiológica y aportar datos para futuras investigaciones.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Bases Teóricas

#### 2.1.1 Infección de tracto urinario

La ITU se define como la invasión, presencia, colonización y proliferación de microorganismos patógenos en el tracto urinario (en condiciones normales, estéril) con síntomas clínicos, que puede comprometer desde la vejiga hasta el parénquima renal (15-16).

##### 2.1.1.1 Etiología

La *Escherichia coli* es el agente etiológico principal de infecciones urinarias, causando entre 75 al 90 % de los casos, le sigue el *Staphylococcus saprophyticus*, con 5 al 15 %, y el *Enterococcus* y otros Gram negativos (*Klebsiella* y *Proteus mirabilis*) con otro 5 al 10 %. Los Cocos Gram positivos son responsables de una quinta parte de las ITU, principalmente *Enterococcus faecalis* y ocasionalmente *S. epidermidis* o *S. aureus* (1).

##### 2.1.1.2 Vías de infección

- Ascendente: Mediante el paso de gérmenes procedentes del área perineal a través de la uretra.
- Hematógena: A partir de una bacteriemia (más frecuentemente en neonatos y lactantes).
- Por contigüidad: A través de las manos del personal y de equipos instrumentales contaminados (15,17).

### 2.1.1.3 Clasificación

La ITU se puede agrupar acorde con varios criterios:

- Localización
  - Vías urinarias altas: (pielonefritis, prostatitis, abscesos intrarrenales y perinéfricos).
  - Vías urinarias bajas: (cistitis y uretritis), infección que compromete el parénquima renal, limitada a la vejiga y a la uretra, las cuales se pueden presentar simultáneamente o de manera independiente (1,16).
- Lugar de adquisición
  - Adquiridas en la comunidad.
  - Nosocomiales: se identifica su aparición pasadas 48 horas de la hospitalización, en un paciente que no presenta evidencia de la infección al momento de su ingreso, generalmente asociado a sonda vesical (1).
- Factores asociados y gravedad
  - ITU no complicada: el tracto urinario es funcional y estructuralmente normal.
  - ITU complicada: se acompaña de una anomalía funcional o estructural del tracto urinario, disfunción inmune, obstrucción, instrumentación reciente del tracto urinario, infección asociada al cuidado de la salud, género masculino o embarazo (1,17-18).
- Presentación clínica
  - ITU sintomática: se acompaña de signos o síntomas urinarios.

- ITU asintomática: (bacteriuria asintomática), presencia de urocultivos positivos, sin signos o síntomas (1,16,18).
- Según su aparición
  - Primoinfección: primera infección urinaria.
  - Recidivante: recurrencia de la infección urinaria por el mismo microorganismo con una separación en el tiempo inferior a seis semanas.
  - Reinfección: definida como 3 o más ITU bajas; 2 o más pielonefritis o 1 pielonefritis, 1 ITU baja en un año (17).

#### 2.1.1.4 Diagnóstico

Diagnóstico de laboratorio: Para confirmar el diagnóstico, la mayoría de los autores requieren de la presencia de piuria, definida como más de 10 leucocitos por campo, y de un urocultivo positivo (presencia de bacteriuria), el criterio de diagnóstico mantiene el valor de más de  $10^5$  ufc/ml asociada a signos y síntomas (19).

- Urocultivo: consiste en la siembra de orina de 1  $\mu$ L con asa calibrada en un medio de cultivo que permita el crecimiento bacteriano como agar sangre , agar MacConkey , Chromagar (20).

Recuento e identificación de las colonias en los urocultivos:

Recuento método manual; el recuento de colonias en las biplacas de siembra manual se realiza multiplicando el N° de colonias obtenidas por cien (20).

Recuento sistema automatizado; Este método permitió

corroborar los resultados de las pruebas bioquímicas convencionales y determinar la susceptibilidad por el método de Bauer-Kirby, así como determinar los fenotipos enzimáticos de resistencia antimicrobiana (21).

La interpretación de resultados de urocultivos:

Urocultivo positivo; el hallazgo de un microorganismo en un recuento  $\geq 10^5$  ufc/mL con un sedimento urinario con al menos 10 leucocitos/uL.

Urocultivo negativo; todo recuento menor a 10.000 ufc/mL.

Muestras polimicrobianas; la presencia de tres o más microorganismos, independiente del número de leucocitos.

Frente al caso de obtener un recuento significativo ( $> 10.000$  ufc/ml) sin colonias aisladas, se realiza una resiembra del cultivo para obtener colonias aisladas y realizar un estudio de identificación y susceptibilidad confiables (20).

#### 2.1.1.5 Tratamiento

- Medidas generales: Hidratación adecuada, educar sobre hábitos miccionales, micción cada 3 horas, no posponer deseo miccional, educar sobre hábitos defecatorios, evitar constipación, aseo adecuado.
- Tratamiento antimicrobiano: La elección del antimicrobiano depende del patrón de resistencia local (16).

### 2.1.2 *Enterobacterias*

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre (22).

- *Escherichia coli*: Es el microorganismo de vida libre que mejor se ha estudiado. Estas bacterias pueden ser móviles (la mayoría) o inmóviles, la mayor parte de ellas fermentan la lactosa y son capaces de producir indol a partir de triptófano, *E. coli* es la causa más frecuente de infección urinaria (22).
- *Klebsiella pneumoniae*: Se asocian a enfermedades particulares, fermentan la lactosa, la mayoría produce colonias sumamente mucoides, es capaz de causar ITU y neumonía en personas sanas (22).
- *Klebsiella oxytoca*: Tiene capacidad para producir indol a partir de triptófano. Asimismo, puede ser resistente a múltiples antimicrobianos (22).
- *Proteus mirabilis*: Lactosa negativa, móvil y produce fenilalaninodesaminasa, representa la inmensa mayoría de los aislados clínicos. Produce ureasa, Hidrogeno sulfurado H<sub>2</sub>S, es causante de ITU, de modo ocasional en huéspedes sanos y con mucha frecuencia en aquellos con catéteres, anomalías anatómicas o funcionales del tracto urinario (22).

### 2.1.3 Antimicrobiano

Molécula natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintéticos, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos (23).

#### 2.1.3.1 Clasificación

- Por su mecanismo de acción:

Es el mecanismo por el cual un antimicrobiano es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana. Se dividen en inhibidores de la formación de la pared bacteriana, inhibidores de la síntesis proteica, inhibidores de la duplicación del ADN, inhibidores de la membrana citoplasmática, inhibidores de vías metabólicas (23).

- Por su espectro de actividad:

El término espectro hace referencia a los géneros y especies frente a los que el antimicrobiano es eficaz.

- Amplio: Aquellos antimicrobianos que son activos sobre un amplio número de especies y géneros diferentes.
- Reducido: Antimicrobianos solo activos sobre un grupo reducido de especies (23).

- Por su farmacocinética y farmacodinamia:

- Farmacocinética: Cada clase de antimicrobiano es metabolizada en forma diferente por nuestro organismo. No es lo mismo un betalactámico, con escasa penetración celular, que un macrólido que se concentra a nivel

intracelular. Esto es lo que se llama farmacocinética: absorción, distribución, eliminación (23)

- Farmacodinamia: Los antimicrobianos pueden clasificarse de acuerdo con la forma en que producen la muerte o inhibición bacteriana en antimicrobianos tiempo dependientes y concentración dependiente. En el caso del tiempo dependiente (betalactámicos y macrólidos) el éxito de la terapéutica viene dado por mantener concentraciones por encima de la concentración inhibitoria mínima CIM por el mayor tiempo posible interdosis (T por encima de CIM). En el caso de los concentración dependientes el éxito terapéutico viene dado por lograr un buen pico sérico de concentración (Pico/CIM) (23).

#### 2.1.3.2 Mecanismo de acción y toxicidad

Los agentes antimicrobianos usados en el tratamiento de infecciones causadas por gérmenes patógenos deben de tener como característica óptima, efectos del etéreas para el microorganismo y nula o poca toxicidad para los tejidos del hombre. Esta "toxicidad selectiva" va a depender de la acción que tenga la droga sobre estructuras del microbio que no estén presentes, o sean diferentes, de las encontradas en el ser humano (24).

- Antimicrobianos que inhiben la síntesis de pared celular:  
Entre estos tenemos las penicilinas naturales y sintéticas, las cefalosporinas, la cycloserina, bacitracina y la vancomicina.

La inhibición de la síntesis del péptidoglicano es letal para la bacteria, ya que normalmente, durante la síntesis de la pared celular, el proceso de adición de componentes se acompaña de digestión autolítica de la materia ya existente, por lo que, en presencia de un inhibidor de la síntesis, la digestión enzimática continúa, debilitándose la pared celular (24).

- Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos:

Entre estos tenemos al ácido nalidíxico, la rifampicina, la griseo fulvina, las sulfas y el trimethoprím, que impiden la formación de ácidos nucleicos (ADN Y ARN) (24).

- Antimicrobianos que actúan a nivel de membrana celular:

Los antimicrobianos que ejercen sus efectos deletéreos sobre los microbios a este nivel, producen también efectos tóxicos importantes en los tejidos del hombre, limitando su uso terapéutico (24).

- Antimicrobianos que interfieren la síntesis proteica:

La síntesis de proteínas requiere de mecanismos intactos de interacción entre ribosoma, ácido ribonucleico mensajero (ARNm), de transferencia (ARNt), y aminoácidos (24).

#### 2.1.4 Antimicrobiano betalactámicos

El anillo betalactámico forma parte de la estructura de varias familias de antimicrobianos; consiste en un anillo heterocíclico de cuatro átomos, tres de carbono y uno de nitrógeno y según la naturaleza de los radicales se diferencian las distintas moléculas, siendo las cadenas laterales

complementarias las más relacionadas con su actividad antimicrobiana, farmacocinética y toxicidad (25).

#### 2.1.4.1 Clasificación y estructura

El espectro de los betalactámicos incluye bacterias Gram positivas, Gram negativas y espiroquetas. No son activos sobre los *Mycoplasmas* porque estos carecen de pared celular, ni sobre bacterias intracelulares como *Chlamydia* y *Rickettsia*. La presencia del anillo betalactámico define químicamente a esta familia de antimicrobianos. Además, este determina el mecanismo de acción (25 ,26).

- Penicilinas: Penicilina-benzatina, Ampicilina, Amoxicilina, Amoxicilina/ácido clavulánico, Cloxacilina, Piperacilina-tazobactam, Ampicilina-sulbactam.
- Cefalosporinas:
  - 1ª Generación: Cefazolina, Cefadroxilo.
  - 2ª Generación: Cefuroxima, Cefonicid.
  - 3ª Generación: Cefotaxima, Ceftriaxona, Cefixima o ceftibuteno, Cefpodoxima, Cefditoren, Ceftazidima.
  - 4ª Generación: Cefepima, Ceftarolina.
- Monobactámicos: Aztreonam.
- Carbapenems: Antipseudomónicos, Imipenem, Meropenem, Ertapenem (23,25).

#### 2.1.4.2 Mecanismo de acción

Los antimicrobianos betalactámicos son agentes bactericidas que producen su efecto principalmente a través de 2 mecanismos:

Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana, interfiriendo en la síntesis del peptidoglicano mediante un bloqueo en la última etapa de su producción (transpeptidación) pero también actúan activando la autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano; e inducción de la autólisis bacteriana (25-26).

#### 2.1.5 Resistencia bacteriana

La resistencia que presentan las bacterias contra los antimicrobianos se ha convertido en un problema de salud a nivel mundial. El desarrollo de nuevos fármacos antibacterianos, su uso indiscriminado e irracional y la presión evolutiva ejercida por el uso terapéutico ha favorecido el incremento de cepas resistentes (27).

- Resistencia natural

La resistencia natural es un carácter constante de cepas de una misma especie bacteriana y es un mecanismo permanente, determinado genéticamente y sin correlación con la dosis de antimicrobiano (27).

- Resistencia adquirida

La resistencia adquirida es una característica propia de una especie bacteriana, que por naturaleza es sensible a un antimicrobiano pero que ha sido modificada genéticamente ya

sea por mutación o por adquisición de genes de resistencia (plásmidos, transposones e integrones) (27).

#### 2.1.5.1 Mecanismos de resistencia

- Inactivación del antimicrobiano por destrucción o modificación de la estructura química

Es el mecanismo más común de resistencia adquirida, es un proceso molecular caracterizado por la producción de enzimas que van a llevar a cabo esta función. Las enzimas que destruyen la estructura química, más conocidas, son las betalactamasas que se caracterizan por hidrolizar el núcleo betalactámico rompiendo el enlace amida, otra enzima es la eritromicina esterasa que cataliza la hidrólisis del anillo de lactona del antimicrobiano (27-28).

- Alteración del sitio blanco del antimicrobiano

La resistencia bacteriana conferida por la alteración del sitio en donde actúa el antimicrobiano consiste en la modificación de algunos sitios específicos de la célula bacteriana como la pared celular, la membrana celular, la subunidad 50S o 30S ribosomales, entre otras, los cuales ofrecen resistencia, se traduce en una pérdida de la afinidad y por ende le impide ejercer su acción (27-28).

- Alteración en las barreras de permeabilidad

Este mecanismo se debe a los cambios que se dan en los receptores bacterianos específicos para los antimicrobianos o por alteraciones estructurales en los componentes de

envoltura de la célula bacteriana (membrana o pared celular) que influyen en la permeabilidad, así como cambios en el diámetro y/o número de porinas pueden bloquear el ingreso del antimicrobiano a la bacteria, de esta manera el antibiótico no puede penetrar la superficie bacteriana y alcanzar el núcleo celular, esta es la forma más frecuente de resistencia natural . Es un mecanismo importante en las bacterias Gram negativas, pues poseen canales proteicos denominados porinas que permiten o impiden el paso de moléculas hidrofóbicas (27-28).

- Bombas de flujo o expulsión del antibiótico del interior de la célula bacteriana. Transporta al antimicrobiano hacia el exterior de la célula sin modificaciones, pero sin acción antimicrobiana (28).
- Biofilmes: Las bacterias que forman biofilme están protegidas de la luz ultravioleta, la deshidratación, la acción de los antibióticos, los mecanismos de defensa del organismo como la fagocitosis y otras amenazas ambientales (28).

#### 2.1.6 Betalactamasas

Las enzimas que inactivan penicilinas y cefalosporinas son llamadas betalactamasas, las mismas son capaces de romper el puente amida del anillo penicilánico o cefalosporánico y producir derivados ácidos sin propiedades bactericidas, esto evita que dichos antimicrobianos puedan unirse a las proteínas transportadoras (PBP) y de esta forma impedir la

formación de la pared bacteriana (29).

#### 2.1.6.1 Clasificación

- clasificación de Ambler:

esta reconoce 4 tipos moleculares denominados; A, B, C y D.

- serin- $\beta$ -lactamasas:

Clase A: Estas enzimas se caracterizan por incluir en su clasificación lactamasas de espectro reducido, BLEE y carbapenemasas.

Clase C: Esta clase incluye principalmente las lactamasas de tipo AmpC, las cuales pueden ser de origen cromosómico o plasmídico.

Clase D: Inicialmente las lactamasas de clase D fueron llamadas "oxacilinasas" por su capacidad de hidrolizar oxacilinas y benzilpenicilinas. En esta clase se involucran a las OXA tipo BLEE responsables de generar resistencia a penicilinas y cefalosporinas de espectro extendido.

- Metallo-  $\beta$ - lactamasas (MBL):

Clase B: Estas enzimas tienen la capacidad de hidrolizar a los carbapenémicos y a la mayoría de lactámicos, sin embargo, tiene poca afinidad de hidrólisis con monobactámicos (29-30).

- Clasificación de Bush, Medeiros y Jacoby:

- El grupo 1: Implica cefalosporinasas, comparado con clase C.

- El grupo 2: Consta de penicilinasas y cefalosporinasas que pueden inhibirse por el ácido clavulánico, comparable con la clase A y D.

subclase 2a: Penicilinasas.

subclase 2b: Está compuesto de betalactamasas de espectro amplio. Subgrupo 2be, se compone de BLEE que pueden hidrolizar la 3ª generación Cefalosporinas y monobactámicos. Subgrupo 2br, contiene enzimas resistentes al ácido clavulánico y sulbactam.

Subclase 2c: Inactivan carbenicilina, más eficientemente que la bencilpenicilina y tuvo un efecto leve sobre la cloxacilina.

Subclase 2d: Es capaz de hidrolizar cloxacilina más de Bencilpenicilina y tiene una actividad similar Carbenicilina.

Subclase 2f: Carbapenemasas basadas en serina.

- El grupo 3: Está compuesto por  $\beta$ -lactamasas metalo, comparable con clase ámbar B.
- El grupo 4: Se compone de penicilinasas Que resisten al ácido clavulánico y no comparable con cualquier grupo de Ambler clasificación (28-29).

#### 2.1.7 Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) tienen capacidad de hidrolizar y causar resistencia o sensibilidad disminuida a penicilinas, oximinocefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima) y

monobactámicos (aztreonam), pero no a cefamicinas (cefoxitina) ni carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem), siendo inhibidas por el ácido clavulánico. Las enzimas de espectro extendido (BLEE) están entre las de mayor relevancia clínica e incluyen tres tipos principales, TEM, SHV y CTX-M (31).

#### 2.1.7.1 Clasificación

- TEM: 140 BLEE diferentes de la familia, que generalmente tienen mayor actividad sobre la ceftazidima que sobre la cefotaxima y prevalecen en los Estados Unidos y Europa.
- SHV: Hay más de 50 BLEE de tipo, que tienen mayor actividad sobre la ceftazidima que la cefotaxima y son de distribución universal.
- BLEE CTX-M: prevalece en Sudamérica y Europa del Este, cuya designación se refiere a su efecto particular sobre la cefotaxima y la ceftriaxona, ya se conocen cerca de 40 BLEE CTX-M (32).

#### 2.1.7.2 Detección de betalactamasas de espectro extendido

Los métodos de detección de BLEE se dividen en 2 grupos:

- Métodos fenotípicos; que usan técnicas no moleculares y detectan la capacidad de las enzimas BLEE de hidrolizar diferentes cefalosporinas.
- Métodos genotípicos; que utilizan técnicas moleculares para detectar los genes responsables de la producción de dichas BLEE (30).

### 2.1.7.3 Identificación fenotípica de BLEE

#### Método de tamizaje

Según CLSI, estandarizó la metodología para las pruebas de screening y confirmación de cepas productoras de BLEE en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Proteus mirabilis* por el método basado en el de disco difusión mediante la técnica Kirby-Bauer, ambas etapas (screening y confirmatorio) se hacen necesarias para el reporte de cepas con producción de BLEE, se usa discos de susceptibilidad antimicrobiana de ATM (30 µg), CTX (30 µg), CAZ (30 µg) y CRO (30 µg); teniendo como criterios de sospecha los diámetros: ATM ≤ 27 mm; CTX ≤ 27 mm; CAZ ≤ 22 mm; y CRO ≤ 25 mm (33 -34).

#### Métodos confirmatorios

##### Test confirmatorio BLEE/Método americano (Anexo N°3)

En las placas de agar Mueller Hinton inoculadas con cepas problema, con una turbidez equivalente al tubo N° 0,5 de la escala de Mc Farland; se colocan discos de susceptibilidad antimicrobiana (Britania) de CAZ (30 µg), ceftazidima/ácido clavulánico (CAZ/CAZ-CLA) (30/10 µg), CTX (30 µg), cefotaxima/ácido clavulánico (CTX/CXT-CLA) (30/10 µg). Una diferencia mayor o igual a 5 mm en los halos de inhibición entre los discos de CAZ-CLA y CAZ solos o CXT-CLA y CTX, fue

interpretada como resultado positivo (32-34).

Además de los métodos estandarizados por la CLSI existen métodos alternativos los cuales han mostrado gran capacidad para confirmar la detección de BLEE. Entre ellos el método de “Aproximación de Discos” descrito por Jarlier y cols. en 1988 que usa también la característica de inhibición por el ácido clavulánico y la sinergia ejercida con las cefalosporinas de tercera generación y/o cuarta generación (33,39).

#### 2.1.7.4 Método automatizado para detección de BLEE

Hace aproximadamente 10 años llegaron los sistemas de susceptibilidad antimicrobiana automatizados a nuestro medio, los cuales otorgaron un gran salto hacia la modernización del laboratorio de microbiología y con ello aumentar el número de muestras a procesar, incrementar la sensibilidad, la especificidad, la reproducibilidad de los resultados y la disminución del tiempo en la entrega de estos, entre otras ventajas (35).

El sistema automatizado Vitek® 2 Compact

Es uno de los sistemas automatizados de identificación bacteriana y susceptibilidad antimicrobiana muy empleados en nuestro medio. Este sistema utiliza un formato de tarjetas: las tarjetas de identificación y de susceptibilidad, en ambas se identifica el crecimiento bacteriano mediante colorimetría avanzada que detecta cinéticamente el cambio de color en los

sustratos de cada tarjeta .Para la detección de mecanismos de resistencia asociada a producción de BLEE las tarjetas de susceptibilidad para Gram negativos (AST-GN71) utilizan microdilución detectando resistencia o sensibilidad mediante la turbidimetría , el panel usa tres cefalosporinas (dos de tercera y una cuarta generación) y su respectiva combinación con ácido clavulánico a determinadas concentraciones (36-37) , este método automatizado utiliza puntos de corte en base a la CLSI (Anexo N°4).

2.1.7.5 Nuevo método- Método de inactivación de cefotaxima (MICTX): (Anexo N°5, Anexo N°6)

Paso 1- Incubación de un disco de cefotaxima (30ug) Oxoid con el aislamiento a ensayar en caldo tripteina soya (TSB)

Paso 2- Remover el disco de cefotaxima de la suspensión de la cepa a evaluar y colocar el disco en una placa de Mueller hinton previamente inoculada con la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 e incubarlo a 37°C durante 18 - 24 horas. La presencia de actividad BLEE puede ser fácilmente detectado: la ausencia de una zona de inhibición indica hidrólisis enzimática de cefotaxima durante el primer paso de incubación expresando actividad de BLEE, mientras que una clara zona de inhibición aparece cuando el aislamiento ensayado no expresa actividad de BLEE.

Positivo: Ausencia de halo de inhibición a cefotaxima

Negativo: Presencia de halo de inhibición a cefotaxima  $\geq 17$ .

#### 2.1.8 cepas ATCC

El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recomienda el uso de cepas del American Type Culture Collection (ATCC®) para el control de calidad interno de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Las cepas para el control de calidad recomendadas por el CLSI han sido seleccionadas en base a la susceptibilidad o resistencia a un agente antimicrobiano en particular y su desempeño confiable cuando se prueban utilizando los estándares de esa misma organización y que son los que se utilizan en el Laboratorio de Referencia de Bacteriología del Instituto de Salud Pública (38).

##### *Escherichia coli* ATCC® 25922

Betalactamasa negativa, Se indica en el CCI de agentes antimicrobianos utilizados en bacterias Gram negativas no fastidiosas, Control negativo de test de screening y confirmatorio de BLEE (38).

##### *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 700603

Productora de betalactamasa de espectro extendido tipo SHV-18 (BLEE), Control positivo de pruebas screening y confirmatorias de BLEE (38).

*Escherichia coli* PEED 2017 cepa N°2

Cepa proveniente del Programa de Evaluación Externa del Desempeño 2017 del Instituto Nacional de Salud productora de betalactamasa de espectro extendido tipo CTX-M (Anexo N°11).

## **2.2 Antecedentes:**

### 2.2.1 Antecedentes Internacionales:

Fagundo Sierra R , Cerros Santos MA, Pérez Jáuregui J, García López ES , Mata Rocha M y Andrade Almaraz V , En el año 2006-2007 realizaron un estudio titulado “Evaluación del equipo automatizado Phoenix para la detección de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en aislamientos clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* “ evaluando 606 cepas (592 *E. coli* y 14 *K. pneumoniae*), confirmadas como portadoras de enzimas BLEE, procedentes de urocultivos de pacientes ambulatorios fundamentalmente del Distrito Federal y Estado de México , se confirmó la expresión de BLEE mediante el equipo Phoenix usando como método de referencia la prueba confirmatoria de difusión en agar indicada por el Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) y la detección, por reacción en cadena de la polimerasa, de los genes blaTEM y blaSHV , obteniendo como resultado de las 606 cepas confirmadas por Phoenix; 589 (97%) fueron positivas en la prueba de difusión en agar (*E. coli*; 579 y *K. pneumoniae*; 9). En 13 de las 17 negativas, se detectaron enzimas TEM y/o SHV, para un total de 602 (99%) cepas en que fue posible demostrar la presencia de BLEE. En 4 cepas (1%) no se detectó ninguna BLEE por ambos métodos. Estos resultados indican que el instrumento Phoenix

tiene una sensibilidad del 99% para la detección de BLEE en aislamientos clínicos de *E. coli* y *K. pneumoniae* (39).

Espino M, Álvarez E, Zayas A y Contreras R, en el 2008 realizaron en Cuba un estudio publicado en la Revista Chilena de Infectología, titulado, “Detección de cepas productoras de b-lactamasas de espectro extendido por el sistema Diramic: Comparación con los métodos doble difusión con discos y E-test”, con la finalidad de evaluar la capacidad del sistema DIRAMIC para detectar cepas productoras de enzimas BLEE, en comparación con los métodos E-test y Doble difusión con discos (DDD). Se estudiaron 97 aislados clínicos de diversas muestras clínicas, (58 *E. coli*, 28 *K. pneumoniae*, 7 *K. oxytoca* y 4 *K. ozaenaé*) del Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas (CIMEQ), Hospital Pediátrico del Cerro y Hospital Pediátrico "Dr. Wiliam Soler", todos de la ciudad de La Habana, Cuba. En comparación con la DDD, la sensibilidad y especificidad obtenidas para el DIRAMIC fueron de 92,7% y 92,9%; respectivamente, mientras que en comparación con el E-test, la sensibilidad fue de 85,7% y la especificidad del 100% (40).

Jiménez Guerraa G, Hoyos Mallecot Y, Rodríguez Granger J, Navarro Marí JM y Gutiérrez Fernández J, se realizó un estudio titulado “Método rápido para la detección de la sensibilidad a cefotaxima en *Enterobacterias*”, durante noviembre de 2014 en el laboratorio de microbiología del Complejo Hospitalario Universitario de Granada (Hospital Virgen de las Nieves, Granada, España); se evaluaron las cepas

de *Enterobacterias* procedentes de 499 urocultivos mediante los paneles Microscan y una prueba in house. La prueba in house mostró una sensibilidad del 98% y una especificidad del 97%, con un valor predictivo negativo del 100% y un valor predictivo positivo del 78% (41).

#### 2.2.2 Antecedentes Nacionales:

Lezameta L, Gonzáles-Escalante E, Tamariz J ,en el año 2009 se realizó un estudio en Perú, titulado," Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido", cuyo objetivo fue comparar la eficacia de cuatro métodos fenotípicos para la identificación de cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido aisladas de urocultivos, se incluyó 147 muestras positivas para las especies *E.coli*, *K. Pneumoniae* y *P. mirabilis* del Instituto Nacional de Salud del Niño (Lima, Perú) , obteniéndose como resultado que los métodos confirmatorios frente al descrito por CLSI, mostró una sensibilidad y especificidad de 100% para el método de Jarlier; en el caso de los métodos de Hodge y método tridimensional se encontró una sensibilidad y especificidad de 85,2 %, y 100%, respectivamente (33).

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1 Diseño del Estudio

Estudio descriptivo comparativo, prospectivo de corte transversal.

### 3.2 Población

La población fue de 176 cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella Oxytoca*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Proteus mirabilis* aislados de urocultivos, que fueron obtenidas del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, de Lima, Perú.

#### 3.2.1 Criterios de Inclusión

- Todas las cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella Oxytoca*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Proteus mirabilis* aislados de urocultivos.
- Urocultivos con recuento mayor a 100,000 UFC/mL.

#### 3.2.2 Criterios de Exclusión

- Todas las cepas contaminadas con más de un microorganismo bacteriano aislados de urocultivos.
- Todas las cepas diferentes a *Escherichia coli*, *Klebsiella Oxytoca*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Proteus mirabilis* aislados de urocultivos.

### 3.3 Muestra

El tamaño de muestra fue de 163 mediante la fórmula (Anexo N°7), sin embargo, el estudio se evaluó con un total de 176 cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella Oxytoca*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Proteus*

*mirabilis* aislados de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, durante los meses de Agosto a Diciembre del 2017. Se utiliza el muestreo no probabilístico por conveniencia. El tamaño de muestra fue calculado considerando una prevalencia de 10.8%.

### 3.4 Operacionalización de Variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Forma de registro
<b>Principal:</b> Betalactamasas de espectro extendido	Enzimas que inactivan antimicrobianos betalactámicos	Nuevo método fenotípico MICTX	Binaria	Positivo
		Método automatizado de referencia Vitek 2 compact		Negativo
<b>Secundarias:</b> <i>Enterobacterias</i>	Bacilos Gram negativos presentes en flora entérica.	Ficha de recolección de datos obtenidos de equipos automatizados	Nominal	<i>Escherichia coli</i>
				<i>Klebsiella pneumoniae</i>
				<i>Klebsiella oxytoca</i>
				<i>Proteus mirabilis</i>
Punto de corte	Punto de intersección de una gráfica	Cálculo de la media aritmética, valor máximo y mínimo	Binaria	Positivo
				Negativo
Sensibilidad y especificidad	Capacidad de una prueba o método de dar resultados verdaderos positivos y verdaderos negativos	Tabla de contingencia	Continua	Porcentajes
Valor predictivo positivo y Valor predictivo negativo	Probabilidad de que una prueba positiva sea verdadera positiva y una prueba negativa sea verdadera negativa	Tabla de contingencia	Continua	Porcentajes
Concordancia entre nuevo método fenotípico MICTX y método de referencia	Similitud entre resultados de nuevo método fenotípico MICTX con método de referencia	valoración del coeficiente Kappa (Landis y Koch)	Nominal	Pobre
				Leve
				Aceptable
				Moderada
				Considerable
				Casi perfecto

### **3.5 Procedimientos y Técnicas**

#### **3.5.1 Autorizaciones**

Se tramitó documentos pertinentes para la autorización de entrada a el establecimiento: Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, de Lima, Perú (Anexo N°1, Anexo N°2).

#### **3.5.2 Fase Pre-analítica**

- La recolección de cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Klebsiella Oxytoca* y *Proteus mirabilis* fueron aisladas de urocultivos en el servicio de microbiología clínica del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, el 2017.
- Se realizó de forma no probabilística, por conveniencia, cada día se seleccionó las colonias compatibles con *E. coli*, *K. Pneumoniae*, *K. Oxytoca* y *P. mirabilis*, crecidas en Chromagar, Agar sangre y Agar cled, identificadas previamente por el procedimiento habitual del hospital (Chromagar o tarjetas de identificación bacteriana Vitek 2 GN ).
- Las muestras procesadas fueron registradas en una ficha de recolección de datos (Anexo N°8) y posteriormente se realizó el procesamiento respectivo.

#### **3.5.3 Fase analítica**

Se determinó cepas productoras BLEE mediante los siguientes métodos:

- Método de referencia - Método automatizado Vitek 2 compact.
- Nuevo método fenotípico - Método de inactivación de cefotaxima (MICTX).

#### **3.5.4 Fase post-analítica**

- Se procedió a recopilar los resultados en una ficha de recolección de datos (Anexo N°8) en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé.

### **3.6 Plan de Análisis de Datos**

Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico SPSS versión 23.0, se determinaron tablas de frecuencia, contingencia (Anexo N°9). La concordancia entre los resultados obtenidos del nuevo método fenotípico y el método de referencia, se realizó a través de la valoración del coeficiente Kappa de Landis y Koch (Anexo N°10).

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### 4.1 Resultados

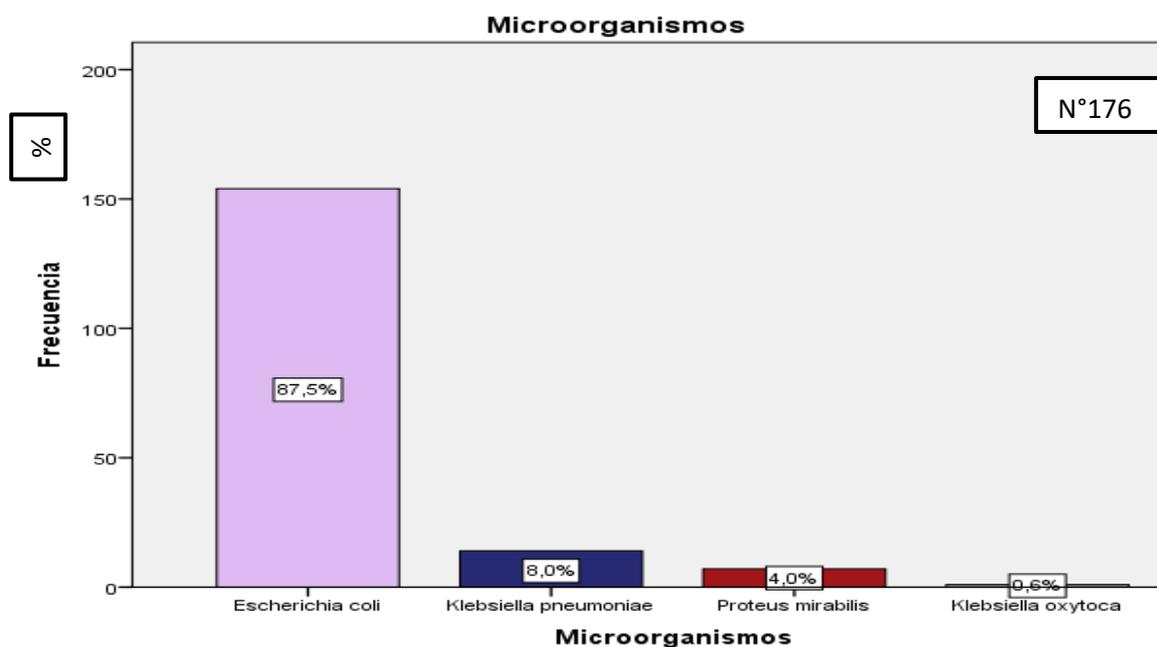
Tabla N°1 Frecuencia de *Enterobacterias* según su especie aislada de urocultivos

Genero/especie	Frecuencia	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	154	87.5%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	8.0%
<i>Proteus mirabilis</i>	7	4.0%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0.6%
<b>Total</b>	<b>176</b>	<b>100%</b>

Fuente: Elaboración propia

Del total de 176 muestras de *Enterobacterias* aisladas de urocultivos se obtuvo; 154 (87.5%) cepas de *Escherichia coli*; 14 (8.0%) de *Klebsiella pneumoniae*; 7 (4.0%) de *Proteus mirabilis* y 1 (0.6%) de *Klebsiella oxytoca* (Tabla N°1 y Gráfico N°1).

Gráfico N°1 Frecuencia de *Enterobacterias* según su especie aislada de urocultivos



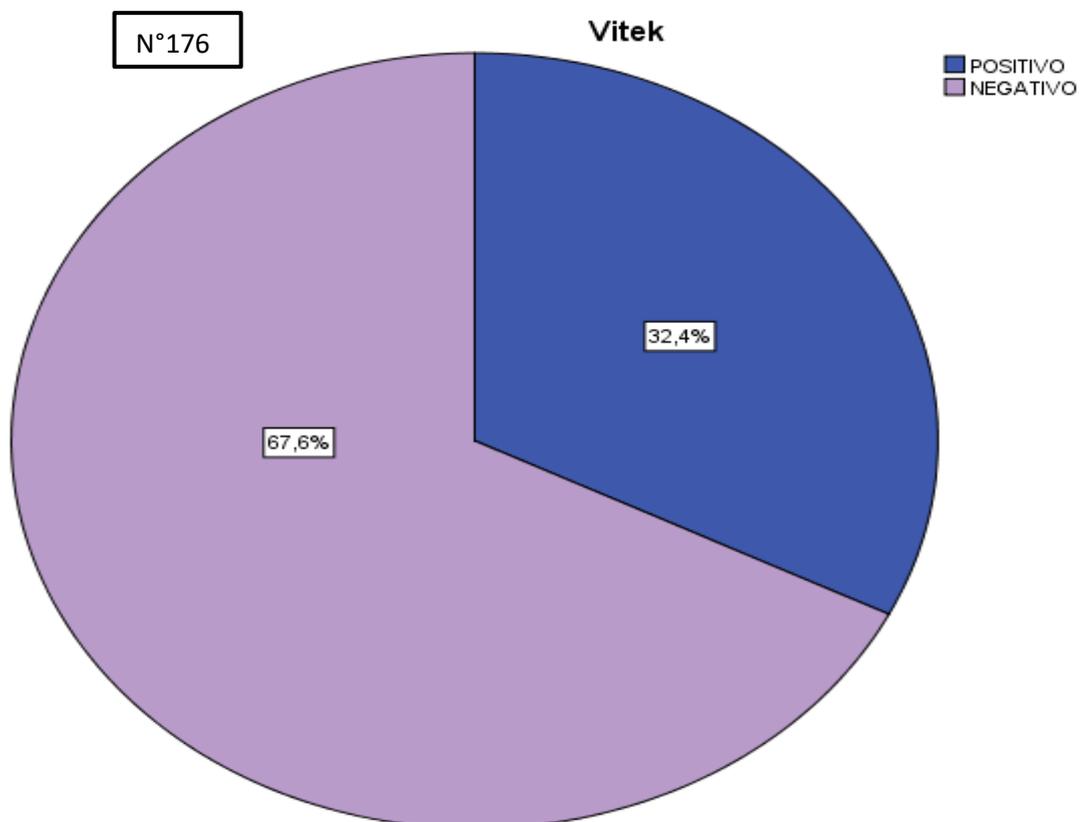
**Tabla N°2 Frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos**

BLEE	Vitek 2 compact	
	Frecuencia	Porcentaje%
<b>Positivo</b>	57	32,4%
<b>Negativo</b>	119	67,6%
<b>Total</b>	176	100%

Fuente: Elaboración propia

Del total de 176 muestras de *Enterobacterias* aisladas de urocultivos y procesadas por el Vitek 2 compact, se encontraron 57 muestras BLEE positivas, revelando una frecuencia de 32.4% (Tabla N°2 y Gráfico N°2).

**Gráfico N°2 Frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos**



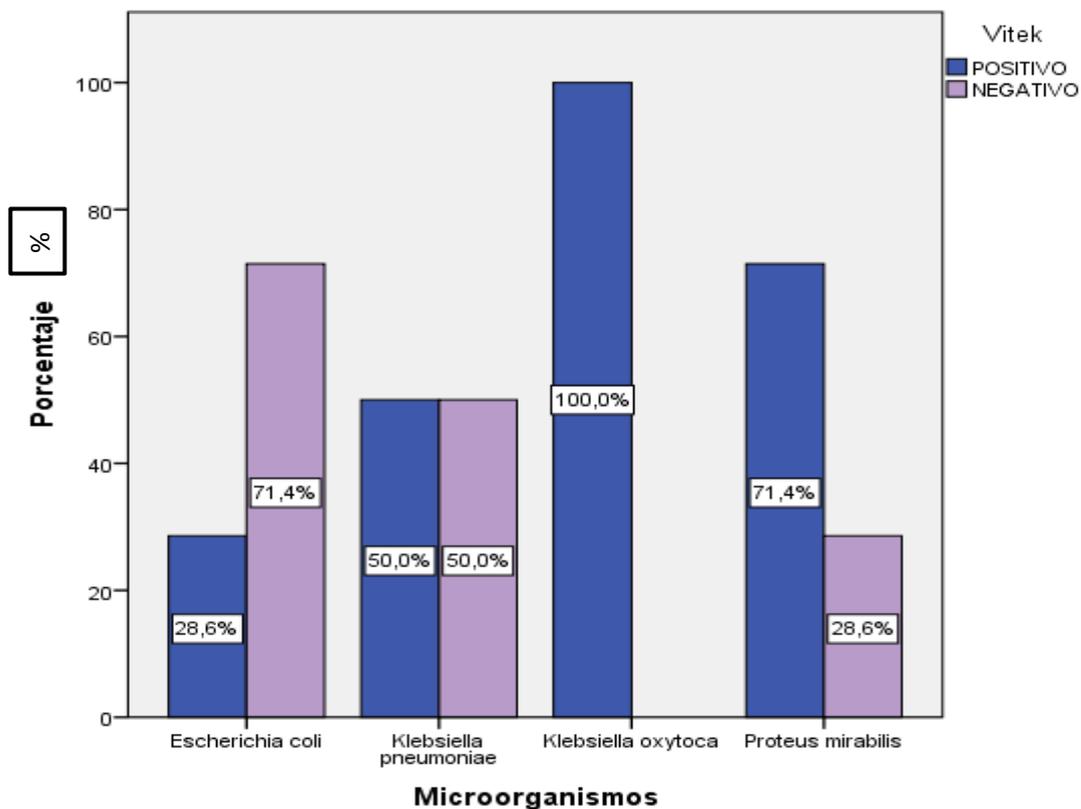
**Tabla N°3 Frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* según su especie aisladas de urocultivos**

<i>Enterobacteria</i> /Especie	Positivo	%	Negativo	%	Total
<i>Escherichia coli</i>	44	28,6%	110	71,4%	154
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	50,0%	7	50,0%	14
<i>Proteus mirabilis</i>	5	71,4%	2	28,6%	7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	100%			1
	57		119		176

Fuente: Elaboración propia

Con respecto a las frecuencias de BLEE en las *Enterobacterias* según su especie y procesadas por el vitek 2 compact, se encontraron cepas de *E. coli* 44 ( 28,6%) , *Klebsiella pneumoniae* 7 (50,0%), *Proteus mirabilis* 5 (71,4%) y *Klebsiella oxytoca* 1 (100%) (Tabla N°3 y Gráfico N°3).

**Gráfico N°3 Frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* según su especie aisladas de urocultivos**



**Tabla N°4 Punto de corte 1 para nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX**

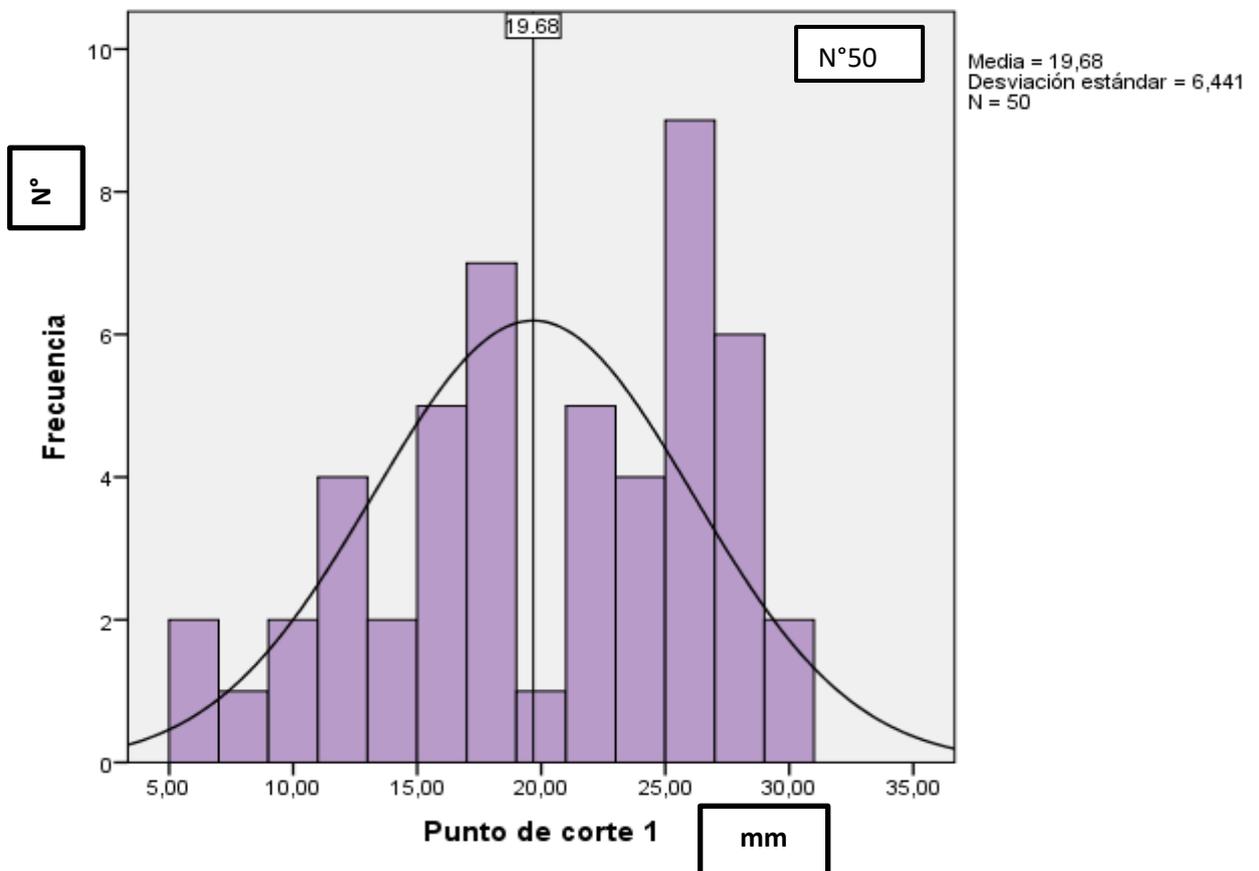
Resultado	Punto de corte
Positivo	<20
Negativo	>=20

\*Cepa control positivo: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603  
 \*Cepa control negativo: *Escherichia coli* ATCC 25922

Fuente: Elaboración propia

Se determinó un punto de corte, en base a las cepas control *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Escherichia coli* ATCC 25922 (Tabla N°4 , Gráfico N°4 ).

**Gráfico N°4 Punto de corte 1 para nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX**



**Tabla N°5 Punto de corte 2 para un nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX**

Resultado	Punto de corte
Positivo	<17
Negativo	>=17

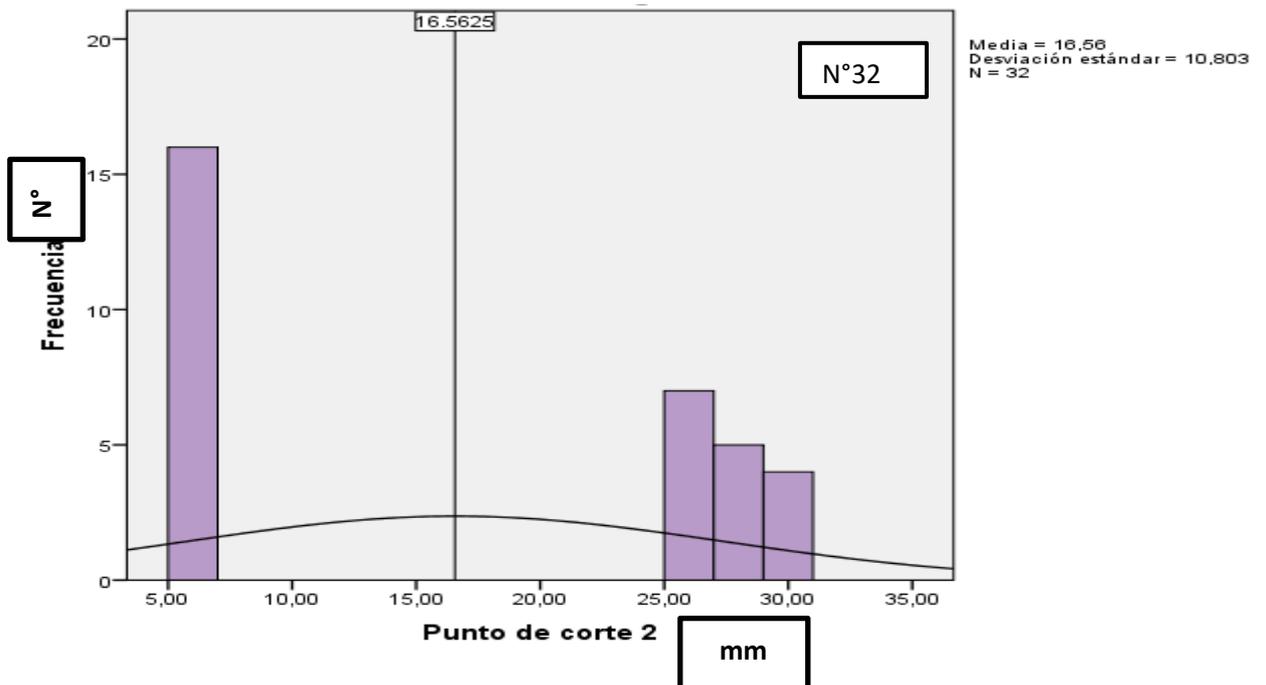
\*Cepa control positivo: *Escherichia coli* PEED 2017 cepa N°02

\*Cepa control negativo: *Escherichia coli* ATCC 25922

Fuente: Elaboración propia

Para establecer la presencia o ausencia de BLEE en *enterobacterias* aisladas de urocultivos procesadas por un nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX se determinó un punto de corte, en base a las cepas control *Escherichia coli* PEED 2017 cepa N°02 y *Escherichia coli* ATCC 25922 (Tabla N°5, Grafico N°5).

**Gráfico N°5 Punto de corte 2 para nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima CIMTX**



**Tabla N°6 Sensibilidad y Especificidad de un nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX para detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos**

		Vitek 2 Compact			Sensibilidad	Especificidad
		Positivo	Negativo	Total		
Nuevo método MICTX	Positivo	55	1	56	98.2%	98.3%
	Negativo	2	118	120		
	Total	57	119	176		

MICTX: Método de inactivación de cefotaxima

Fuente: Elaboración propia

Se determinó la sensibilidad y especificidad de un nuevo método fenotípico MICTX para detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de 176 muestras de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé obteniendo como resultados ; sensibilidad de 98.2% , especificidad 98.3% (Tabla N°6 )

**Tabla N°7 Valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de un nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX para detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos**

		Vitek 2 compact			Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
		Positivo	Negativo	Total		
Nuevo método MICTX	Positivo	55	1	56	96.5%	99.2%
	Negativo	2	118	120		
	Total	57	119	176		

MICTX: Método de inactivación de cefotaxima

Fuente: Elaboración propia

Se determinó el valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de un nuevo método fenotípico MICTX para detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas

de 176 muestras de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé obteniendo como resultados ; valor predictivo positivo 96.5% y valor predictivo negativo 99.2%(**Tabla N°7** ).

**Tabla N°8 Concordancia del nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX con el método de referencia Vitek 2 compact**

	Valor	Error estandarizado asintótico <sup>a</sup>	T aproximada <sup>b</sup>
Medida de acuerdo con Kappa	,961	,022	12,749
N de casos válidos	176		

Fuente: Elaboración propia

La concordancia para el nuevo método fenotípico para detección BLEE con el método de referencia automatizado Vitek 2 compact fue de Kappa 0.961, considerándose un valor casi perfecto según la escala de valoración de Landis y Koch (**Tabla N°8**).

#### 4.2 Discusión

En el presente estudio se evaluó un nuevo método fenotípico MICTX para detección de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de 176 muestras de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, obteniendo como valores de las pruebas diagnósticas, sensibilidad de 98.2%, especificidad 98.3%, valor predictivo positivo 96.5 % y valor predictivo negativo 99.2 % en comparación con el método de referencia Vitek 2 compact. Estos resultados fueron diferentes a los encontrados por Lezameta et al, en el Instituto Nacional de Salud del Niño, compararon 4 métodos fenotípicos para detección de BLEE, método americano (patrón de oro), método de Jarlier, método Hodge y método

tridimensional, al comparar el método de Jarlier con el patrón de oro se obtuvo una sensibilidad y especificidad de 100%, mientras que al comparar con el método de Hodge y tridimensional se obtuvo una sensibilidad de 85, 1% y una especificidad de 100%. En ambos estudios se emplearon distintas metodologías para los métodos de referencia , método automatizado Vitek 2 compact (microdilución) y método americano (disco en difusión), la sensibilidad y especificidad del nuevo método fenotípico MICTX del presente estudio fue discretamente menor a la encontrada por el método de jarlier en el estudio de Lezameta et al , sin embargo tuvo una sensibilidad mayor al compararla con el método de Hodge y tridimensional del estudio de Lezameta et al , lo cual indicaría que el nuevo método fenotípico MICTX sería una mejor alternativa que el método de Hodge y Tridimensional.

En otro estudio realizado por Jiménez et al, se evaluó una prueba rápida *in house* en comparación con el método automatizado Microscan demostrando una sensibilidad de 98%, especificidad de 97%, valor predictivo positivo 78% y valor predictivo negativo 100%, resultados menores a los del nuevo método fenotípico MICTX del presente estudio, lo cual demostraría que el nuevo método fenotípico sería una mejor alternativa para los laboratorios.

Las discrepancias del presente estudio, del nuevo método fenotípico MICTX con el método de referencia Vitek 2 compact fueron mínimas , dos casos de ellos fueron positivos para Vitek 2 compact y negativos para el nuevo método , concluyendo que los resultados del Vitek 2 compact dieron falsos positivos y esto debido a que las cefalosporinas de tercera ( Ceftriaxona) y cuarta generación (Cefepima) ni Aztreonam fueron afectados por BLEE , con un MIC  $\leq 1$  , mostrando ser una betalactamasa tipo AmpC por la resistencia producida a

inhibidores (Sulbactam ) , cefalosporinas de primera generación (Cefazolina) y cefamicidas (cefoxitina) .Un caso fue negativo para Vitek 2 compact y positivo para el nuevo método llegando a la conclusión que el nuevo método dio un falso positivo.

En el presente estudio se encontraron 57 casos de BLEE que representan un 32.4% de un total de 176 muestras de *Enterobacterias* aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, estos resultados fueron diferentes a los encontrados por Lezameta et al. En el Instituto Nacional de Salud del Niño, encontrando 16 casos de BLEE que representan un 10.8% de un total de 147 muestras de *Enterobacterias* aisladas de urocultivos, utilizando distintas metodologías para su detección, método automatizado Vitek 2 compact (microdilución) y método manual (difusión en disco) respectivamente. La frecuencia obtenida en el presente estudio fue mayor a la presentada por Lezameta et al, esto puede ser explicado por las diferentes poblaciones de estudio de las que se obtuvieron las muestras, la población evaluada por Lezameta et al fueron niños, lo cual explicaría la diferencia de frecuencias con el presente estudio que trabajó con una población de pacientes en su mayoría mujeres (gestantes, no gestantes) y niños.

En otro estudio realizado por Fagundo et al , se encontró 606 casos de BLEE que representan un 12.8 % de 4728 muestras de enterobacterias aisladas de urocultivos, la cual es menor a la obtenida en el presente estudio con 32.4% , en ambos estudios se empleó la misma metodología ,métodos automatizados Phoenix y Vitek 2 compact respectivamente , sin embargo , la población del estudio de Fagundo et al fueron procedentes de pacientes ambulatorios que acudieron a diversos laboratorios , por ende , son muestras de procedencia

desconocida , lo cual explicaría la diferencia de frecuencias con el presente estudio , cuya población en su mayoría son madres y niños, además, se trabajó con orinas de pacientes ambulatorios que todavía no recibieron tratamiento antimicrobiano aparentemente.

La frecuencia observada de BLEE en la población de *Escherichia coli* fue de 28.6%, y en el estudio de Fagundo et al fue de 13%, en ambos estudios se concluyó que la cepa de *Escherichia coli* portadoras de BLEE es la de mayor incidencia.

### 4.3 Conclusiones

- Los valores de las pruebas diagnósticas del nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX fueron óptimas en comparación con el método de referencia Vitek 2 compact, demostrando ser un método confiable, rentable y de fácil interpretación.
- La *Enterobacteria* de especie *Escherichia coli* fue la más frecuentemente aislada en el presente estudio con una frecuencia de 87.5 %.
- La frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos fue alta siendo 32.4%.
- La frecuencia de BLEE en *Enterobacterias* según especie, fue más significativa en las cepas de *Escherichia coli* con 28.6%.
- La cepa *Escherichia coli* PEED 2017 cepa 02 productora de BLEE CTX-M utilizada como control positivo facilitó una mejor interpretación de los resultados.
- La sensibilidad y especificidad del nuevo método fenotípico fue de 98.2% y 98.3% respectivamente, mostrando en todos los casos una alta eficacia en la

detección de los verdaderos positivo y verdaderos negativos, sin presentar diferencias significativas.

- El valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del nuevo método fenotípico evaluado fue de 96.5% y 99.2% aumentando la probabilidad de certeza de los resultados.
- Hubo un grado de concordancia casi perfecto del nuevo método fenotípico en comparación con el método de referencia con un Kappa de 0.961, denotando que puede utilizarse como método alternativo en el laboratorio clínico para la detección de BLEE en *Enterobacterias*.

#### **4.4 Recomendaciones**

- Se recomienda utilizar como control positivo la cepa *Escherichia coli* ATCC BAA-2326 productora de BLEE CTX-M.
- Evaluar el nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX para detección de BLEE comparándolo con el método fenotípico confirmatorio recomendado por la CLSI.
- Evaluar el nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX para detección de BLEE en otras muestras biológicas.
- Se recomienda evaluar el nuevo método fenotípico de inactivación de cefotaxima MICTX con discos de cefotaxima y ceftazidima.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pemberthy-López C, Gutiérrez-Restrepo J, Arango-Salazar N, Monsalve M, Giraldo-Alzate N, GutiérrezHenao F et al. Aspectos clínicos y farmacoterapéuticos de la infección del tracto urinario. Revisión estructurada. Rev CES Med .2011; 25(2):135-152.
2. Orrego-Marín CP, Henao-Mejía CP, Cardona-Arias JA. Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana. Acta Med colomb. 2014; 39(4).
3. Guevara N, Guzmán M, Merentes A, Rizzi A, Papaptzikos J, Rivero N et al. Patrones de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias gramnegativas aisladas de infecciones del tracto urinario en Venezuela: Resultados del estudio SMART 2009-2012. Rev chilena Infectol .2015; 32 (6): 639-648.
4. Hospital Infantil de México Federico Gómez. Resistencia antibiótica en la infección urinaria: la historia sin fin. Bol Med Hosp Infant Mex.2014; 71 (6):329-331.
5. Who.int, El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo [sede Web]: Ginebra; 2014 - [acceso 10 de diciembre del 2016]. Disponible en:  
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>
6. Un.org, ONU aprueba declaración la lucha a la resistencia a los antimicrobianos [sede Web]: Nueva York; 2016 - [acceso 10 de diciembre del 2016]. Disponible en:  
<http://www.un.org/spanish/News/story.asp?NewsID=35869&Kw1=resistencia&Kw2=antibioticos&Kw3=#.WBIJheN97Gg>

7. Who.int, Los líderes mundiales se comprometen en la ONU a abordar la resistencia a los antimicrobianos [sede Web]: Nueva York; 2016 - [acceso 10 de diciembre del 2016]. Disponible en:  
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/commitment-antimicrobial-resistance/es/>
8. Organización Mundial de la Salud. Proyecto de declaración política de la reunión de alto nivel de la Asamblea General sobre la resistencia a los antimicrobianos. Nueva York; 2016. documento WHA64/2015/REC/1, anexo 3.
9. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. La Asamblea General de la ONU insta a los Estados miembros a dedicar recursos para luchar de manera coordinada contra las resistencias bacterianas [sede Web]: Madrid; 2016- [acceso 10 de diciembre del 2016]. Disponible en:  
[http://www.seimc.org/contenidos/noticias/2016/seimc-nt-20160921-ONU\\_y\\_las\\_resistencias\\_bacterianas.pdf](http://www.seimc.org/contenidos/noticias/2016/seimc-nt-20160921-ONU_y_las_resistencias_bacterianas.pdf)
10. Who.int, La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [sede web]: Ginebra; 2017- [acceso 27 de octubre del 2017]. Disponible en:  
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>
11. Organización Mundial de la Salud. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics [sede Web]: Ginebra; 2017- [acceso 27 de octubre del 2017]. Disponible en:

[http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short\\_Summary\\_25Feb-ET\\_NM\\_WHO.pdf](http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf)

12. Who.int, Un informe de la OMS confirma que el mundo se está quedando sin antibióticos [sede web]: Ginebra; 2017- [acceso 27 de octubre del 2017]. Disponible en:  
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/running-out-antibiotics/es/>
13. organización mundial de la salud. Antibacterial agents in clinical development [sede web]: Ginebra; 2017- [acceso 27 de octubre del 2017]. Disponible en:  
[http://www.who.int/medicines/news/2017/IAU\\_AntibacterialAgentsClinicalDevelopment\\_webfinal\\_2017\\_09\\_19.pdf](http://www.who.int/medicines/news/2017/IAU_AntibacterialAgentsClinicalDevelopment_webfinal_2017_09_19.pdf)
14. Ministerio de salud. informe de la resistencia antimicrobiana en bacterias de origen hospitalario- 2012. Lima: MINSA,2012.
15. Benítez- Fuentes R, Jiménez-San Emeterio J. Infección del tracto Urinario. En: Ángeles CC, coordinador. Pediatría Integral. 6°ed.Barcelona: Ergon,2013. p. 402-411.
16. Salas P, Barrera P, González C, Zambrano P, Salgado I, Quiroz I et al. actualización en el diagnóstico y manejo de la infección Urinaria en pediatría. Rev Chil Pediatr.2012; 83 (3):269-278.
17. Antón-Jiménez M, Esteban-Sáiz R, Ortés-Gómez R. infección urinaria. En: Alberto Alcocer, coordinador. Tratado de Geriatria para residentes. Madrid: editorial ,2006. p. 429-433.
18. Gonzalo de Liria C, Méndez-Hernández M, Azuara- Robles M. Infección urinaria. En: Víctor M, coordinador. Protocolos diagnósticos y terapéuticos en nefrología pediátrica. 3ª ed. Barcelona: edi ,2014. p.126-134.

19. Pigrau C. Infecciones del tracto urinario nosocomiales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(9):614–624.
20. Bustamante V, Meza P, Román JC, García P. Evaluación de un sistema automatizado de siembra de orinas para urocultivos. *Rev chilena Infectol*. 2014; 31 (6): 670-675.
21. Argüez - de Paz AR, Rodríguez - Chávez A y Rojas – Hernández N. *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas en pacientes con infección del tracto urinario. *Rev Cub Med Int Emerg* .2015; 14 (4):16-29
22. Puerta-García A, Mateos-Rodríguez F. Enterobacterias. *Medicine*. 2010;10(51):3426-31.
23. Torres M, Mattera A. Principales grupos de antibióticos. En: coordinador. *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. 2da ed. Montevideo: Fermur;2006. p. 189-196.
24. Morales - Araya MA, Antimicrobianos: una revisión sobre mecanismos de acción y desarrollo de resistencia. *Acta Med Costarric*. 1985;28(2):79-83.
25. Gómez J, García-Vázquez E, Hernández-Torres A. Los betalactámicos en la práctica clínica. *Rev Esp Quimioter* .2015;28(1): 1-9.
26. Suarez C, Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(2):116–129.
27. Héctor Javier Pérez-Cano y Atzín Robles-Contreras. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia Bacteriana. *Rev Med*. 2013,4(3):186-191.
28. Calderón-Rojas G y Aguilar-Ulate L. Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Rev Med Costa Rica*.2016,73 (621):757 – 763.

29. Morejón - García M. Betalactamasas de espectro extendido. Rev cubana Med. 2013; 52(4): 272-280.
30. García-Tello A, Gimbernata H, Redondoa C, Aranab DM, Cachob J, Angulo JC. Betalactamasas de espectro extendido en las infecciones del tracto urinario causadas por enterobacterias: aproximación a su conocimiento y pautas de actuación. Actas Urol Esp. 2014;38(10):678 - 684.
31. Navarro F, Calvoc J, Cantónd R, Fernández-Cuencae F, Mirelisa B. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011;29(7):524 - 534.
32. Casellas JM. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la Infectología Rev Panam Salud Publica. 2011;30(6):519–28.
33. Lezameta L, Gonzáles-Escalante E, Tamariz J. Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2010; 27(3): 345-51.
34. The Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. 27 ed; 2017. M02- A12, M07- A10, M11- A8.
35. Patricia -García C. Ventajas y problemas de los métodos automatizados de estudio de susceptibilidad in vitro. Rev Chil Infect. 2002; 19 (2): 96-100
36. Beatrice-Hervé E. Nuevas tecnologías en diagnóstico microbiológico: automatización y algunas aplicaciones en identificación microbiana y estudio de susceptibilidad. Rev. med. clin. condes .2015; 26(6) 753-763.
37. BioMérieux®, S.A. Información del producto VITEK® 2 Systems. Versión: 24461. Disponible en:

<https://www.mybiomerieux.com>

38. American Type Culture Collection. ATCC® Multidrug-Resistant & Antimicrobial Testing Reference strains.2018, BA-0318-15 .
39. Fagundo-Sierra R, Cerros-Santos MA, Pérez-Jáuregui J, García-López ES, Mata-Rocha y Andrade-Almaraz V. Evaluación del equipo automatizado Phoenix para la detección de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en aislamientos clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. 2008,33(3):94-102.
40. Espino M, Álvarez E, Zayas A, Rolando Contreras A. Detección de cepas productoras de b-lactamasas de espectro extendido por el sistema DIRAMIC: Comparación con los métodos doble difusión con discos y E-test. Rev Chil Infect.2010; 27(6):544-550
41. Jiménez-Guerra G, Hoyos-Mallecot Y, Rodríguez-Granger J, Navarro-Marí JM y Gutiérrez-Fernández J. Método rápido para la detección de la sensibilidad a cefotaxima en enterobacterias. Rev Argent Microbiol. 2016;48(4):320-324.
42. Cerda J, Villaroel L. Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. Rev Chil Pediatr. 2008; 79 (1): 54 - 58

# **ANEXOS**

## ANEXO N°1

### CARTA DE PRESENTACIÓN DE LA “UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS” AL HOSPITAL NACIONAL DOCENTE MADRE NIÑO SAN BARTOLOMÉ



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA  
"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

Pueblo Libre, 03 de mayo de 2018

OFICIO N° 0693 -2018-EPTM-FMHyCS-UAP

Señor Doctor  
**ILDAURO AGUIRRE SOSA**  
Director Médico del Hospital Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolome.  
Lima  
Presente.-

Asunto: Autorización

De mi consideración:

Es grato dirigirme a usted, para saludarlo en nombre de la Escuela Profesional de Tecnología Médica de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas y a la vez presentar a doña **Esthefany Yuleissi Salazar Gonzales**, con código de matrícula N° 2011124747, quien solicita autorización para la recolección de Información para realizar el trabajo de Tesis titulada: **"EVALUACIÓN DE UN NUEVO MÉTODO FENOTÍPICO PARA LA DETECCIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE UROCULTIVOS DEL HOSPITAL NACIONAL DOCENTE MADRE NIÑO SAN BARTOLOMÉ, LIMA 2017"**, teniendo como Asesor de la misma al Lic. TM. Cesar Ramirez Fontela.

Por tal motivo solicitamos a usted otorgar el permiso requerido y brindar las facilidades a nuestra estudiante, a fin de que pueda desarrollar su trabajo de investigación en la institución que usted representa.

Sin otro particular y agradeciendo la atención a la presente, me despido de usted, expresándole los sentimientos de aprecio y estima personal.

Atentamente,

  
DR. CESAR RAMIREZ FONTELA  
DIRECTOR (E) DE ENLACE  
ESCUELA PROFESIONAL

JTY/ech

**ANEXO N°2**  
**CARTA DE APROBACIÓN DEL HOSPITAL NACIONAL DOCENTE MADRE NIÑO SAN BARTOLOMÉ PARA LA EJECUCIÓN DE LA TESIS**



PERU

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Docente Madre Niño "San Bartolomé"

Oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

Lima, 24 de abril de 2018

**OFICIO N° 0272-2018-OADI-HONADOMANI-SB**

**ESTHEFANY YULEISSI SALAZAR GONZALES**

Investigadora Principal

Presente. –

**Exp. N° 07091-17**

Tengo el agrado de dirigirme a usted para saludarla cordialmente y en relación al Proyecto de Tesis titulado:

**"EVALUACIÓN DE UN NUEVO MÉTODO FENOTÍPICO PARA LA DETECCIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE UROCULTIVOS DEL HOSPITAL NACIONAL DOCENTE MADRE NIÑO SAN BARTOLOMÉ, LIMA 2017".**

Al respecto se informa lo siguiente:

El planteamiento del estudio y la metodología, incluyendo el análisis estadístico propuesto para la evaluación de los resultados son apropiados para el proyecto.

**Conclusión**

El proyecto con Expediente N°07091-17. Esta aprobado por el Comité de Ética Institucional e Investigación de manera expedita.

Nos es propicia la oportunidad para renovar los sentimientos de nuestra consideración y estima personal.

Atentamente,



EVL/vma  
cc.archivo

Av. Alfonso Ugarte 825 4to piso Lima – Perú

Teléfono 2010400- anexo 162

### ANEXO N°3

#### MÉTODO FENOTÍPICO DE TAMIZAJE Y CONFIRMATORIO PARA BLEE EN *ENTEROBACTERIAS*

**Table 3A. Screening and Confirmatory Tests for Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis***

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory 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 <math>\mu</math>g or            Ceftazidime 30 <math>\mu</math>g or            Aztreonam 30 <math>\mu</math>g or            Cefotaxime 30 <math>\mu</math>g or            Ceftriaxone 30 <math>\mu</math>g</p> <p>For <i>P. mirabilis</i>:</p> <p>Cefpodoxime 10 <math>\mu</math>g or            Ceftazidime 30 <math>\mu</math>g or            Cefotaxime 30 <math>\mu</math>g</p> <p>(The use of more than one antimicrobial agent for screening 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 <math>\mu</math>g/mL or            Ceftazidime 1 <math>\mu</math>g/mL or            Aztreonam 1 <math>\mu</math>g/mL or            Cefotaxime 1 <math>\mu</math>g/mL or            Ceftriaxone 1 <math>\mu</math>g/mL</p> <p>For <i>P. mirabilis</i>:</p> <p>Cefpodoxime 1 <math>\mu</math>g/mL or            Ceftazidime 1 <math>\mu</math>g/mL or            Cefotaxime 1 <math>\mu</math>g/mL</p> <p>(The use of more than one antimicrobial agent for screening improves the sensitivity of ESBL detection.)</p>	<p>Ceftazidime 30 <math>\mu</math>g            Ceftazidime-clavulanate<sup>a</sup> 30/10 <math>\mu</math>g            and            Cefotaxime 30 <math>\mu</math>g            Cefotaxime-clavulanate 30/10 <math>\mu</math>g</p> <p>(Confirmatory testing requires use of both cefotaxime and ceftazidime, alone and in combination with clavulanate.)</p>	<p>Ceftazidime 0.25–128 <math>\mu</math>g/mL            Ceftazidime-clavulanate 0.25/4–128/4 <math>\mu</math>g/mL            and            Cefotaxime 0.25–64 <math>\mu</math>g/mL            Cefotaxime-clavulanate 0.25/4–64/4 <math>\mu</math>g/mL</p> <p>(Confirmatory testing requires 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 $\pm$ 2°C; ambient air	35°C $\pm$ 2°C; ambient air	35°C $\pm$ 2°C; ambient air	35°C $\pm$ 2°C; ambient air
Incubation Length	16–18 hours	16–20 hours	16–18 hours	16–20 hours

Table 3A. (Continued)

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test	
Test Method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
<b>Results</b>	<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 screening concentrations 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>
<b>Reporting</b>			<p>For all confirmed ESBL-producing strains:</p> <p>If laboratories do not use current cephalosporin and aztreonam interpretive criteria, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam.</p> <p>If laboratories use current cephalosporin and aztreonam interpretive criteria, then test interpretations for these agents do not need to be changed from susceptible to resistant.</p>	

Fuente: Normas CLSI M100-S, 2017

## ANEXO N°4

### PUNTOS DE CORTE SEGÚN CLSI



**HOSPITAL NACIONAL DOCENTE MADRE NIÑO SAN BARTOLOMÉ**

FUENTE: CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI)

<i>Enterobacterias</i>									
ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO mm				MIC µg/mL			
		S	SDD	I	R	S	SDD	I	R
<b>PENICILINAS</b>									
Ampicilina	10 µg	≥17		14-16	≤13	≤8		16	≥32
<b>CEFALOSPORINAS</b>									
Cefazolina (oral)	30 µg	≥15			≤14	≤16			≥32
Cefazolina (parenteral) 2g c/8 H	30 µg	≥23		20-22	≤19	≤2		4	≥8
Cefazolina (parenteral) 1g c/12 H	30 µg	≥15			≤14	≤16			≥32
Cefuroxima (oral)	30 µg	≥23		15-22	≤14	≤4		8-16	≥32
Cefuroxima (parenteral)	30 µg	≥18		15-17	≤14	≤8		16	≥32
Cefoxitina	30 µg	≥18		15-17	≤14	≤8		16	≥32
Cefotaxima	30 µg	≥26		23-25	≤22	≤1		2	≥4
Cefotetan	30 µg	≥16		13-15	≤12	≤16		32	≥64
Ceftriaxona	30 µg	≥23		20-22	≤19	≤1		2	≥4
Ceftazidima	30 µg	≥21		18-20	≤17	≤4		8	≥16
Cefpodoxime	10 µg	≥21		18-20	≤17	≤2		4	≥8
Cefepime	30 µg	≥25	19-24		≤18	≤2	4-8	-	≥16
<b>β-LACTAMICO/INHIBIDOR DE BETALACTAMASA</b>									
Ampicilina/sulbactam	10/10 µg	≥15		12-14	≤11	≤8/4		16/8	≥32/16
Amoxicilina/acido Clavulanico	20/10 µg	≥18		14-17	≤13	≤8/4		16/8	≥32/16
Piperacilina/tazobactam	100/10 µg	≥21		18-20	≤17	≤16/4		32/4-64/4	≥128/4
Ticarcilina/acido Clavulanico	75/10 µg	≥20		15-19	≤14	≤16/2		32/2-64/2	≥128/2
<b>MONOBACTAMS</b>									
Aztreonam	30 µg	≥21		18-20	≤17	≤4		8	≥16
<b>CARBAPENEMS</b>									
Doripenem	10 µg	≥23		20-22	≤19	≤1		2	≥4
Imipenem	10 µg	≥23		20-22	≤19	≤1		2	≥4
Meropenem	10 µg	≥23		20-22	≤19	≤1		2	≥4
Ertapenem	10 µg	≥22		19-21	≤18	≤0.5		1	≥2
<b>AMINOGLUCOSIDOS</b>									
Gentamicina	10 µg	≥15		13-14	≤12	≤4		8	≥16
Amikacina	30 µg	≥17		15-16	≤14	≤16		32	≥64
Tobramicina	10 µg	≥15		13-14	≤12	≤4		8	≥16
<b>QUINOLONAS</b>									
Acido nalidixico	30 µg	≥19		14-18	≤13	≤16			≥32
Norfloxacin	10 µg	≥17		13-16	≤12	≤4		8	≥16
Ciprofloxacina	5 µg	≥21		16-20	≤15	≤1		2	≥4
Ofloxacin	5 µg	≥16		13-15	≤12	≤2		4	≥8
Levofloxacina	5 µg	≥17		14-16	≤13	≤2		4	≥8
<b>TETRACICLINAS</b>									
Tetraciclina	30 µg	≥15		12-14	≤11	≤4		8	≥16
Doxiciclina	30 µg	≥14		11-13	≤10	≤4		8	≥16
Minociclina	30 µg	≥16		13-15	≤12	≤4		8	≥16
<b>OTROS</b>									
Cloramfenicol	30 µg	≥18		13-17	≤12	≤8		16	≥32
Trimetoprim/sulfametoxazol	1.25/23.75 µg	≥16		11-15	≤10	≤2/38			≥4/76
Azitromicina	15 µg	≥13			≤12	≤16			≥32
Nitrofurantoina	300 µg	≥17		15-16	≤14	≤32		64	≥128

## ANEXO N°5

### NUEVO MÉTODO DE INACTIVACIÓN DE CEFOTAXIMA (MICTX)

MÉTODO FENOTÍPICO	MÉTODO DE INACTIVACIÓN DE CEFOTAXIMA		
<b>MEDIO DE CULTIVO</b>	Agar Mueller Hinton		
<b>CONCENTRACIÓN DE ANTIMICROBIANO</b>	Cefotaxima 30 ug		
<b>PROCEDIMIENTO</b>	1° inoculación de disco cefotaxima con muestra problema	Medio de cultivo	Caldo tripteina soya
		Condiciones de incubación	35°C ± 2°C
		Tiempo de incubación	4 horas
	2° incubación de disco cefotaxima con la cepa <i>E. coli</i> ATCC 25922.	Medio de cultivo	Agar Mueller Hinton inoculado con <i>E. coli</i> ATCC 25922
		Condiciones de incubación	35°C ± 2°C
		Tiempo de incubación	18 - 24 horas
<b>RESULTADOS</b>	<p>Actividad de BLEE negativo: Presencia de halo <math>\geq 17</math>mm inhibición de cefotaxima</p> <p>Actividad de BLEE positiva: Ausencia de halo de inhibición de Cefotaxima</p>		

Fuente: Elaboración propia

## ANEXO N°6

### MÉTODO DE INACTIVACIÓN DE CEFOTAXIMA (MICTX)

**Objetivo:** Determinar la presencia de BLEE en *Enterobacterias* aisladas de urocultivos.

**Fundamento:** El disco de cefotaxima al ser hidrolizada por la cefotaximasa reprime su actividad y permite el crecimiento de cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 evidenciando ausencia de halo en la placa de Mueller hinton.

#### Materiales

- Tubos con solución salina estéril 2 mL
- Tubos con caldo tripteína soya (TSB) - 2ml
- Asa de metal calibrada 1 uL
- Asa de metal calibrada 10 uL
- Pinza de metal
- Hisopo estéril
- Placa 100 x 15 con agar Mueller Hinton
- Discos de sensibilidad de cefotaxima (CTX) 30 ug
- Cepa control positivo de *Escherichia coli* PEED 2017 cepa N°02
- Cepa control negativo de *Escherichia coli* ATCC 25922
- Regla
- Plumón indeleble

#### Equipos:

- Incubadora a 37 °C
- Turbidímetro o Densicheck
- Vitek 2 compact

#### Procedimiento:

- a) Rotular todas las muestras con números o códigos
- b) Para cada aislamiento a evaluar, disolver una asada de 1µl de un cultivo fresco, en 2 ml de TSB.
- c) Agregar al tubo de TSB un disco de Cefotaxima. Asegurarse que todo el disco quede sumergido en la suspensión e incubar a 35°C ± 2°C, en aerobiosis, durante 4 hrs. ± 15 min.
- d) preparar una suspensión de 0.5 de Mc Farland de *E. coli* ATCC 25922 en solución fisiológica.
- e) Inocular una placa de agar MH con la suspensión de *E. coli* ATCC 25922, por estera. Dejar secar las placas por 3-10 min antes de agregar el disco de cefotaxima.
- f) Remover el disco de cefotaxima de la suspensión de la cepa a evaluar utilizando un asa de 10µl y ayudándose con las paredes del tubo. Presionar contra las paredes del tubo para remover el exceso de líquido del disco. Colocar el disco en la placa de MH previamente inoculada con la cepa ATCC. No colocar más de 4 discos de cefotaxima en las placas de 100mm y 8 discos en las placas de 150mm.
- g) Invertir la placa e incubar a 35°C ± 2°C, en aerobiosis, durante 18-24 hrs.
- h) Luego de la incubación, medir la zona de inhibición como en la rutina de las pruebas de sensibilidad.

#### Interpretación:

Positivo: Ausencia de halo alrededor del disco de Cefotaxima.

Negativo: Halo >=17mm alrededor del disco de Cefotaxima.

## ANEXO N°7

### CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2}$$

Dónde:

- N : Total de la población  
Z $\alpha^2$  : Nivel de Confianza (escala de 1 DE para un IC de 95% (1,96<sup>2</sup>)  
p : Proporción esperada. p = 0.108 (10.8%)  
q : Complemento de la proporción (1 – 0.108 = 0.892)  
d : Margen de error (5% = 0,05)

Entonces Tenemos:

$$n = \frac{1,96^2 \times 0.108 \times 0.892}{0,05^2}$$

$$n = 148.0$$

$$n = 148$$

Agregando el 10% de la muestra para casos de pérdidas y/o deserciones:

$$n = 148 + 10\%(148)$$

$$n = 148 + 14.8$$

$$n = 162.8$$

**n = 163 sujetos de estudio**

**ANEXO N°8**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

MÉTODO FENOTÍPICO DE INACTIVACIÓN DE CEFOTAXIMA MICTX									
N°	FECHA	EDAD	SEXO	HC	N°LABORATORIO	MICROORGANISMOS	RESULTADO		
							VITEK 2	NUEVO METODO	MEDIDA (mm)
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									

**ANEXO N°9**  
**TABLA DE CONTINGENCIA**  
**CÁLCULO DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS**

<b>ENFERMEDAD SEGUN PRUEBA CONFIRMATORIA</b>		
<b>RESULTADO DE LA PRUEBA DE ESTUDIO</b>	<b>ENFERMO</b>	<b>SANO</b>
Positivo	VP	FP
Negativo	FN	VN

$$S = \frac{VP}{VP + FN}$$

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP}$$

$$E = \frac{VN}{VN + FP}$$

$$VPN = \frac{VN}{FN + VN}$$

Dónde:

- S : Sensibilidad
- E : Especificidad
- a : VP
- b : FP
- c : FN
- d : FP
- VP : Verdadero Positivo
- VN : Verdadero Negativo
- FN : Falso Negativo
- FP : Falso Positivo

## ANEXO N°10

### VALORACIÓN DEL COEFICIENTE KAPPA (LANDIS Y KOCH)

Coeficiente kappa	Fuerza de concordancia
0.00	Pobre (Poor)
0.01 – 0.20	Leve (Slight)
0.21 – 0.40	Aceptable (Fair)
0.41 – 0.60	Moderada (Moderate)
0.61 – 0.80	Considerable (Substantial)
0.81 – 1.00	Casi perfecto (Almost perfect)

Landis y Koch 1977 (42)

## ANEXO N°11

### CEPA *ESCHERICHIA COLI* PEED 2017 CEPA N°02

Hosp. San Bartolome  
Informe clínico

Nº de Cliente: \_\_\_\_\_ Editado 20-nov-2017 12:24 COT

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_ Nº paciente: \_\_\_\_\_  
 Localización: \_\_\_\_\_ Médico: \_\_\_\_\_  
 Nº de examen: 17PEED02 Nº de aislamiento: 2

Cantidad de organismo: \_\_\_\_\_  
 Organismo seleccionado: *Escherichia coli*

Origen: \_\_\_\_\_ Recogida: \_\_\_\_\_

<b>Comentarios:</b>	
---------------------	--

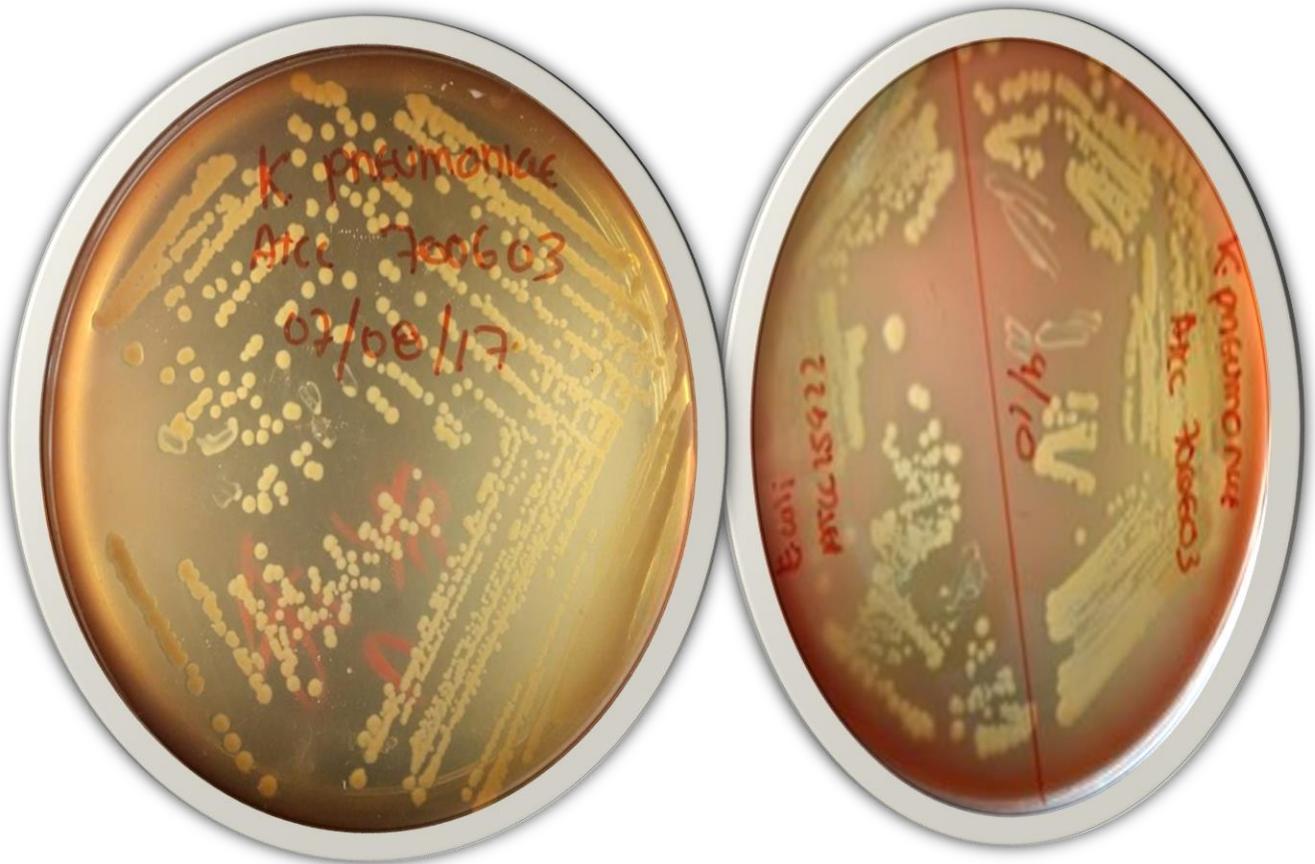
Información de sensibilidad			Tiempo de análisis: 8,75 horas		Estado: Final	
Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación	
BLEE	POS	+	Meropenem	<= 0,25	S	
Ampicilina	>= 32	R	Amicacina	32	I	
Ampicilina/Sulbactam	>= 32	R	Gentamicina	>= 16	R	
+Cefalexina		R	Tobramicina	>= 16	R	
Cefazolina	>= 64	R	Ciprofloxacino	<= 0,25	S	
Ceftriaxona	>= 64	R	Moxifloxacino	<= 0,25	S	
Cefepima	2	*R	Tigeciclina	<= 0,5	S	
Aztreonam	>= 64	R	Nitrofurantoina	<= 16	S	
Ertapenem	<= 0,5	S	Trimetoprima/Sulfametoxazol	<= 20	S	
Imipenem	<= 0,25	S				

+ = Antibiótico deducido \* = AES modificado \*\* = Usuario modificado

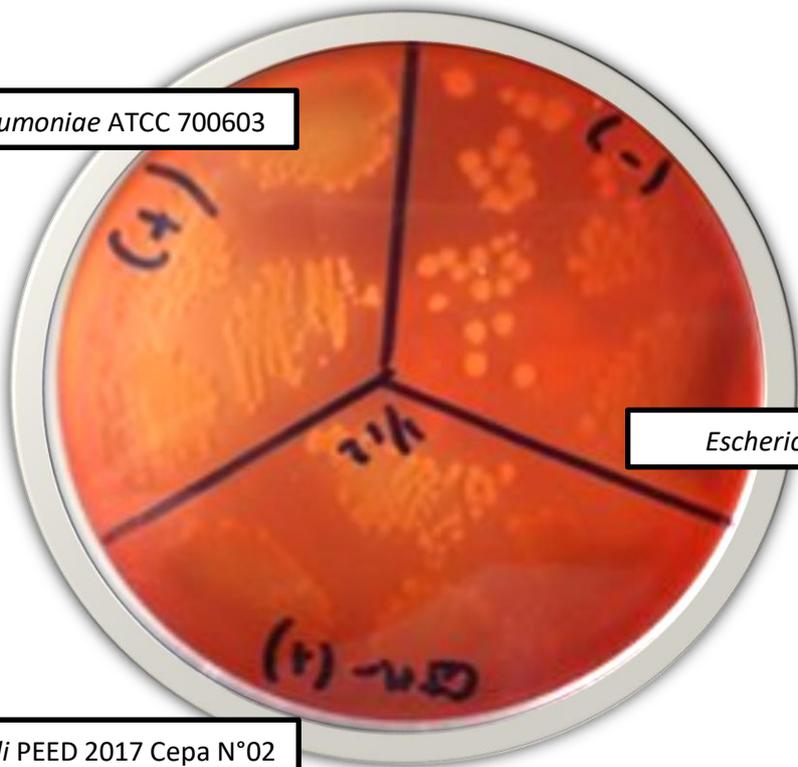
Conclusiones de AES		
Nivel de confianza:	Coherente	
Fenotipos marcados para revisión:	AMINOGLUCÓSIDOS	GEN TOB NET AMI RESISTENTES (AAC(6')+?)
	BETA-LACTÁMICOS	BETA-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO, BLEE (SIMILAR A CTX-M)

FIGURA N°1

CEPAS CONTROL POSITIVO Y CONTROL NEGATIVO



*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603



*Escherichia coli* ATCC 25922

*Escherichia coli* PEED 2017 Cepa N°02

FIGURA N°2

PLACAS CONTROL POSITIVO Y CONTROL NEGATIVO PROCESADAS  
CON EL NUEVO MÉTODO FENOTÍPICO DE INACTIVACIÓN DE  
CEFOTAXIMA (MICTX)

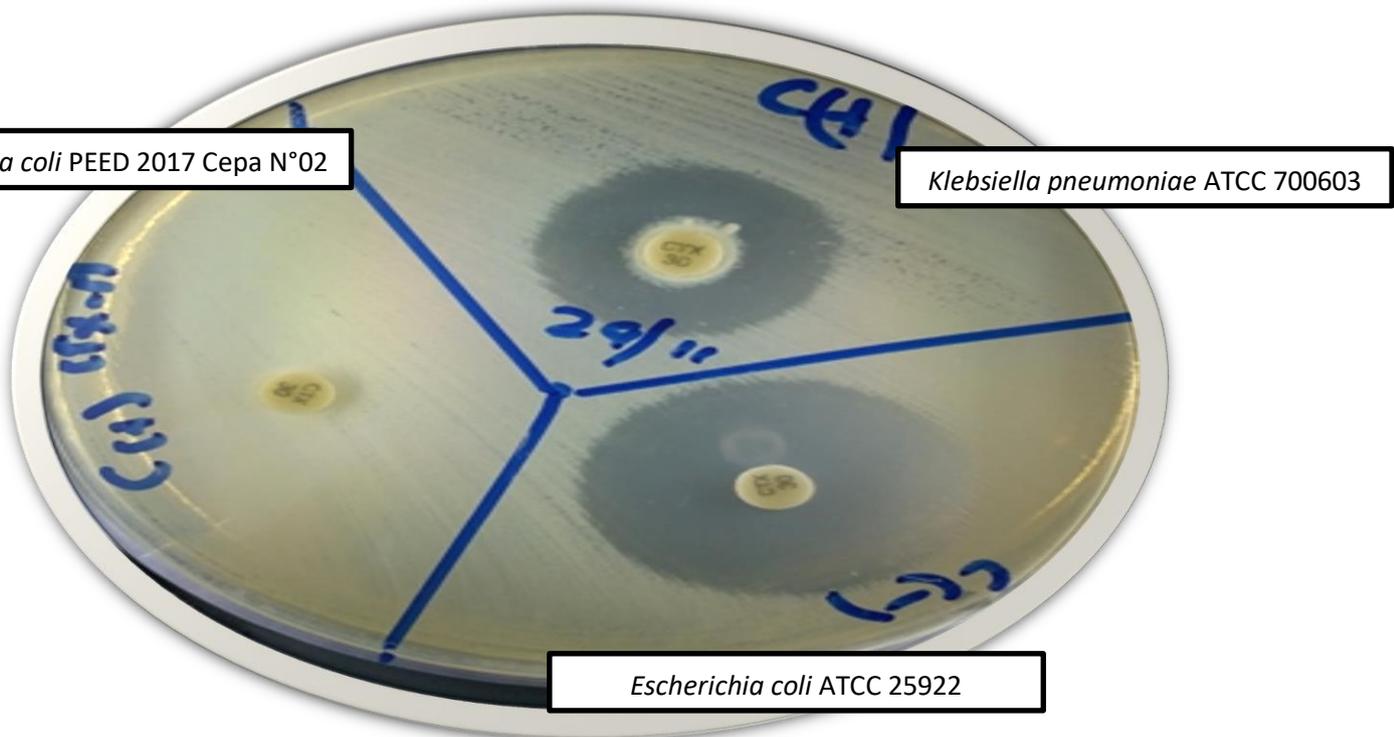
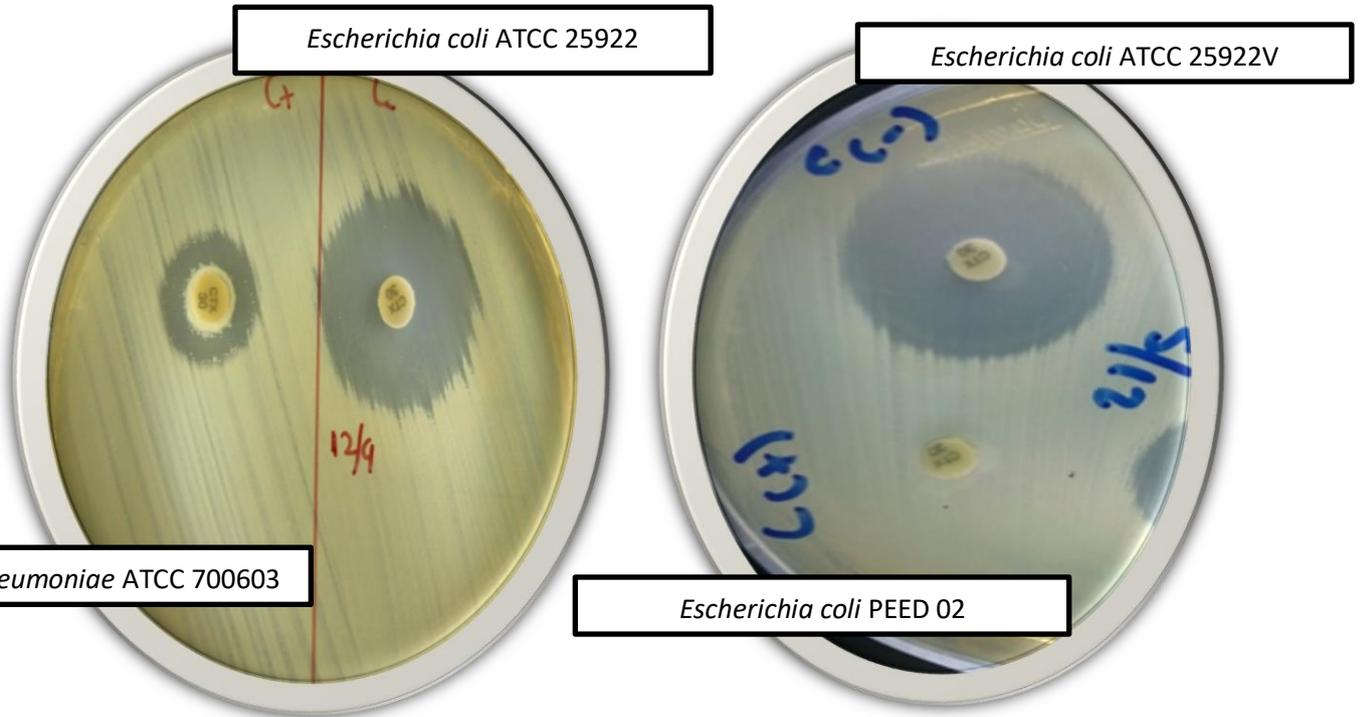


FIGURA N°3

PLACAS BLEE POSITIVO Y NEGATIVO PROCESADAS CON EL NUEVO MÉTODO FENOTÍPICO DE INACTIVACIÓN DE CEFOTAXIMA

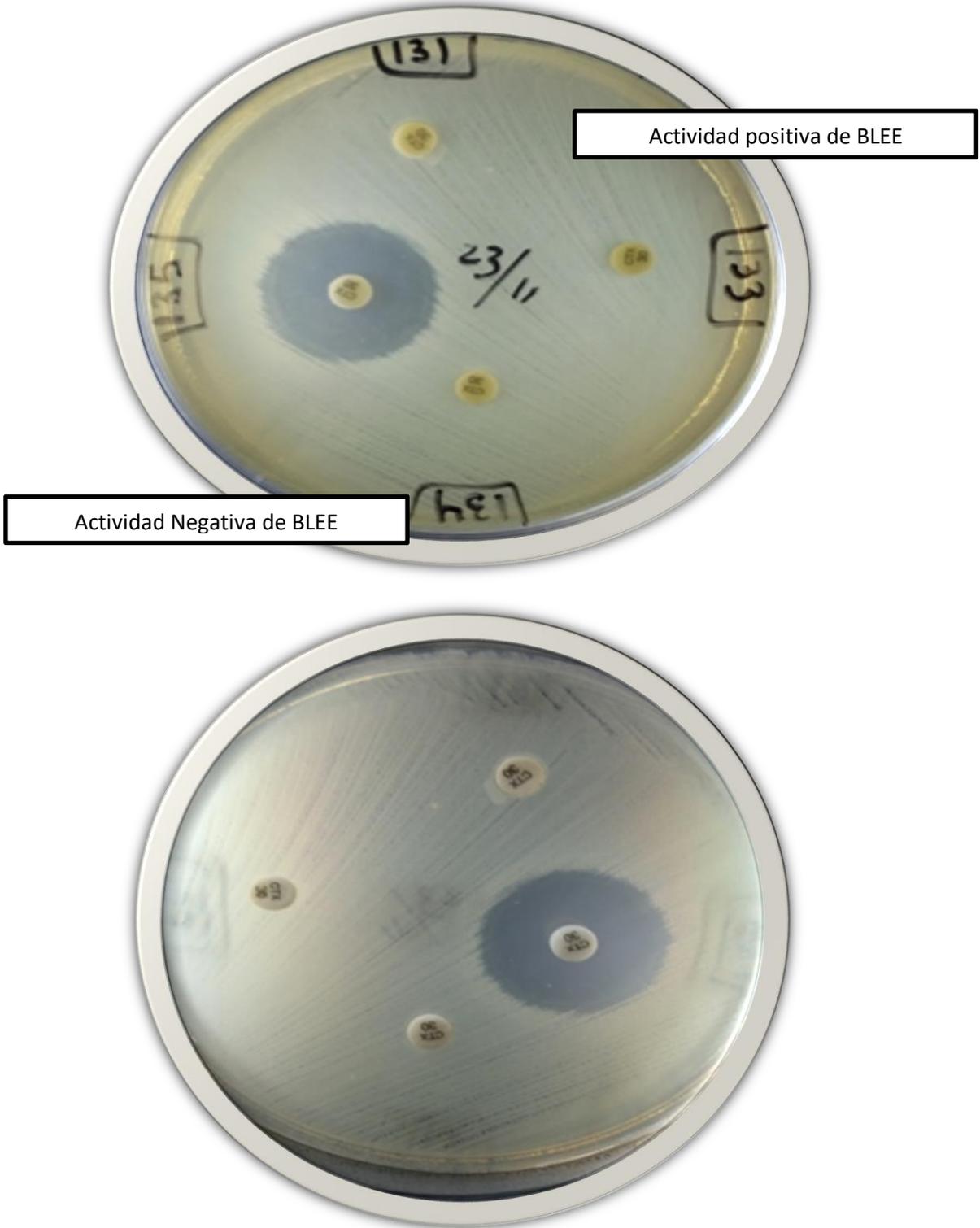
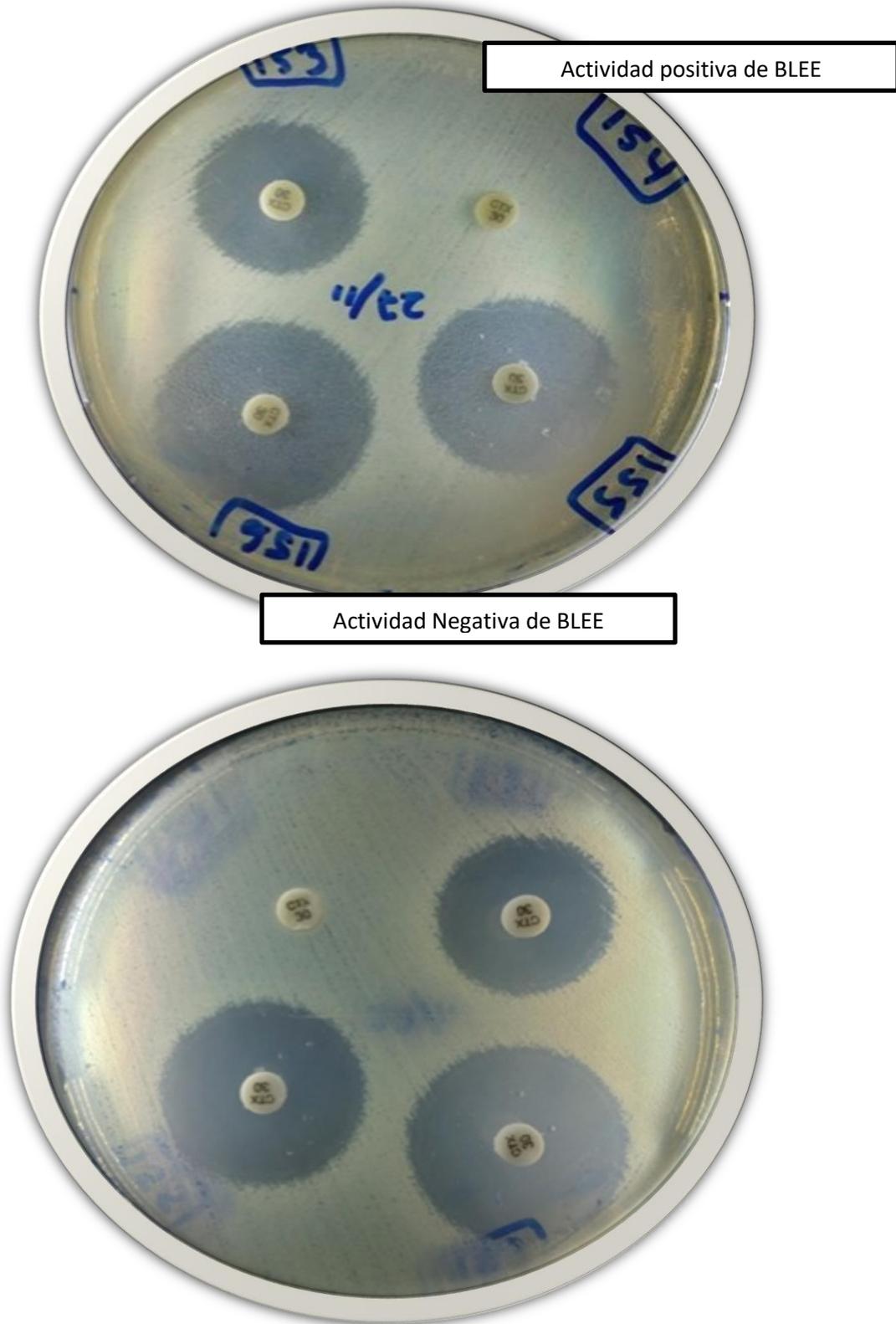


FIGURA N°4

PLACAS BLEE POSITIVO Y NEGATIVO PROCESADAS CON EL NUEVO MÉTODO FENOTÍPICO DE INACTIVACIÓN DE CEFOTAXIMA



MATRIZ DE CONSISTENCIA

“EVALUACIÓN DE UN NUEVO MÉTODO FENOTÍPICO PARA LA DETECCIÓN DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE UROCULTIVOS DEL HOSPITAL NACIONAL DOCENTE MADRE NIÑO SAN BARTOLOMÉ, LIMA 2017”

Problema de investigación	Objetivos de la investigación	Variables de estudio	Dimensión y escalas		Instrumento de medición	Metodología
<p><b>Problema general:</b> ¿Cuánto es el valor de las pruebas diagnósticas de un nuevo método fenotípico para la detección de betalactamasas de espectro extendido en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?</p>	<p><b>Objetivo general:</b> Determinar el valor de las pruebas diagnósticas de un nuevo método fenotípico para la detección de betalactamasas de espectro extendido en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.</p>	<p><b>Variable principal:</b> Betalactamasas de espectro extendido</p>	<p>Nuevo método fenotípico MICTX</p>	<p>Positivo</p> <p>Negativo</p>	Evaluación macroscópica	Estudio descriptivo comparativo, prospectivo de corte transversal
			<p>Método de referencia Vitek 2 compact</p>	<p>Positivo</p> <p>Negativo</p>		
<p><b>Problemas específicos:</b> ¿Cuánto es la frecuencia de <i>Enterobacterias</i> según especie aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?</p>	<p><b>Objetivos específicos:</b> Determinar la frecuencia de <i>Enterobacterias</i> según especie aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.</p>	<p>Especies de <i>Enterobacterias</i></p>	<p><i>Escherichia coli</i></p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p> <p><i>Klebsiella oxytoca</i></p> <p><i>Proteus mirabilis</i></p>		Ficha de recolección de datos	<p>Población: Cepas de <i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella Oxytoca</i>, <i>Klebsiella Pneumoniae</i> y <i>Proteus mirabilis</i> aislados de urocultivos</p>

<p>¿Cuánto es la frecuencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?</p>	<p>Determinar la frecuencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.</p>	<p>BLEE en <i>Enterobacterias</i></p>	<p>BLEE Positivo</p>		<p>Método automatizado Vitek 2 compact</p>	<p>Muestra: El tamaño de muestra fue de 176 cepas de <i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella Oxytoca</i>, <i>Klebsiella Pneumoniae</i> y <i>Proteus mirabilis</i> aislados de urocultivos</p>
<p>¿Cuánto es la frecuencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> según su especie aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?</p>	<p>Determinar la frecuencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> según su especie aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.</p>	<p>BLEE en <i>Enterobacterias</i> según especie</p>	<p><i>E.coli</i></p>	<p>BLEE positivo</p>	<p>Método automatizado Vitek 2 compact</p>	
			<p><i>K. pneumoniae</i></p>	<p>BLEE positivo</p>		
			<p><i>K. oxytoca</i></p>	<p>BLEE positivo</p>		
			<p><i>P. mirabilis</i></p>	<p>BLEE positivo</p>		
<p>¿Cuánto es el punto de corte del nuevo método fenotípico para establecer la presencia o ausencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?</p>	<p>Determinar el punto de corte del nuevo método fenotípico para establecer la presencia o ausencia de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.</p>	<p>Punto de corte de nuevo método MICTX</p>	<p>Positivo</p>		<p>Cálculo de la media aritmética, valor máximo , mínimo</p>	
			<p>Negativo</p>			

<p>¿Cuánto es la sensibilidad (S) y especificidad (E) de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?</p>	<p>Determinar la sensibilidad (S) y especificidad (E) de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.</p>	<p>Sensibilidad y especificidad</p>	<p>Porcentajes</p>	<p>Tabla de contingencia</p>
<p>¿Cuánto es el valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?</p>	<p>Determinar el valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de un nuevo método fenotípico para la detección de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.</p>	<p>Valor predictivo positivo y Valor predictivo negativo</p>	<p>Porcentajes</p>	<p>Tabla de contingencia</p>
<p>¿Cuánto es la concordancia entre el nuevo método fenotípico y el método de referencia para detección de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017?</p>	<p>Determinar la concordancia entre el nuevo método fenotípico y el método de referencia para detección de BLEE en <i>Enterobacterias</i> aisladas de urocultivos del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima 2017.</p>	<p>Concordancia entre el nuevo método fenotípico MICTX y el método de referencia</p>	<p>Pobre</p> <hr/> <p>Leve</p> <hr/> <p>Aceptable</p> <hr/> <p>Moderada</p> <hr/> <p>Considerable</p> <hr/> <p>Casi perfecto</p>	<p>Valoración del coeficiente Kappa</p>