

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
POSTGRADO DE MEDICINA INTERNA  
INSTITUTO AUTÓNOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LOS ANDES  
MÉRIDA, VENEZUELA

PERFIL MICROBIOLÓGICO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE  
*ENTEROBACTERIACEAE* PRODUCTORAS DE INFECCIONES URINARIAS  
ASOCIADAS A CATÉTER EN PACIENTES RECLUIDOS EN LOS SERVICIOS DE  
MEDICINA INTERNA DEL INSTITUTO AUTÓNOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO  
DE LOS ANDES

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

AUTOR:

Pedro José Quijada Martínez

TUTOR:

Dra. María del Carmen Araque

MÉRIDA, VENEZUELA 2015

C.C Reconocimiento

PERFIL MICROBIOLÓGICO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE  
*ENTEROBACTERIACEAE* PRODUCTORAS DE INFECCIONES URINARIAS  
ASOCIADAS A CATÉTER EN PACIENTES RECLUIDOS EN LOS SERVICIOS DE  
MEDICINA INTERNA DEL INSTITUTO AUTÓNOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO

www.bdigital.ula.ve DE LOS ANDES

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO POR EL MEDICO CIRUJANO  
PEDRO JOSÉ QUIJADA MARTÍNEZ CI: 17.957.546, ANTE EL CONSEJO DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES, COMO  
CREDENCIAL DE MÉRITO PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA

**Autor:**

**Pedro José Quijada Martínez**

Médico Cirujano. Residente de tercer año del postgrado de Medicina Interna de la facultad de medicina de la Universidad de Los Andes. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes.

**Tutor:**

**María del Carmen Araque de Della Prugna.**

Médico Cirujano. Doctor en Ciencias Médicas Fundamentales. Profesor Titular. Universidad de Los Andes. Departamento de Microbiología y Parasitología. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

**Financiamiento:** Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo de Desarrollo Científico Humanístico, Tecnológico y de las Artes. Universidad de Los Andes (CDCHTA-ULA) Código No. FA-572-14-07-EE

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

*Dedicado a:*

*Mi amada familia; mis padres: Cristina Martínez y Pedro Quijada, mi hermana: Gabriela*

*Quijada, mis segundas mamás, mis abuelitas: Eduarda Aguilera y Rosa Aguilera.*

## AGRADECIMIENTOS

A DIOS todo poderoso que permite en su infinita bondad que culmine esta etapa en mi vida  
y formación profesional.

A mis padres, mi hermana y mis abuelas quienes me apoyan y brindan su amor incondicional para darme ánimos de continuar los proyectos que me propongo, sin ustedes nada de esto sería posible.

A la profesora María del Carmen Araque tutora de la investigación, ejemplo de excelencia y dedicación, sin su aporte no fuese sido posible este trabajo.

A la Ilustre Universidad de Los Andes, que me asistió en parte del financiamiento del proyecto y ha permitido mi formación como médico en pregrado y postgrado.

A la unidad de Medicina Interna cuyos adjuntos me han enseñado la disertación y aproximación clínica, la valoración global del paciente, sin dejar a un lado la humanidad.

Al Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, fuente de los resultados de este trabajo.

A Patricia Mateus por darme ánimos de continuar y alcanzar la perfección de éste trabajo.

A mis compañeros de postgrado con los que he compartido tantas vivencias durante estos tres años.

A los pacientes quienes me inspiran para continuar aprendiendo, estudiando e intentando comprender los fenómenos clínicos observados.

**Pedro J. Quijada**

**ÍNDICE DE CONTENIDO**

Resumen.....	9
Summary.....	10
Introducción.....	11
✓ Justificación.....	11
✓ Antecedentes .....	12
✓ Marco teórico.....	14
✓ Hipótesis.....	36
✓ Objetivos .....	37
Marco metodológico	
✓ Diseño de la investigación.....	38
✓ Materiales y métodos .....	38
Resultados.....	45
Discusión.....	68
Conclusiones.....	74
Recomendaciones.....	76
Bibliografía.....	77
Anexos.....	93

**LISTA DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Principales factores de virulencia de <i>E. coli</i> .....	18
<b>Tabla 2.</b> Principales mecanismos de resistencia antibiótica de enterobacterias.....	20
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de las $\beta$ -lactamásas bacterianas.....	26
<b>Tabla 4.</b> Iniciadores que se utilizaron en este estudio.....	44
<b>Tabla 5.</b> Distribución de los pacientes de acuerdo al grupo etario y género.....	45
<b>Tabla 6.</b> Distribución de los pacientes con infección urinaria asociada a catéter (ITUAC) de acuerdo al diagnóstico principal de hospitalización y género.....	46
<b>Tabla 7.</b> Distribución de los pacientes de acuerdo al área de hospitalización.....	47
<b>Tabla 8.</b> Distribución de los pacientes con ITUAC de acuerdo a los días de permanencia del catéter.....	48
<b>Tabla 9.</b> Distribución de los pacientes de acuerdo al n° de microorganismos reportados en el urocultivo y frecuencia según género.....	50
<b>Tabla 11.</b> Diagnóstico microbiológico y distribución de acuerdo a patrones de asociación microbiana.....	52
<b>Tabla 12.</b> Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de enterobacterias aisladas de pacientes con ITUAC.....	54
<b>Tabla 13.</b> Susceptibilidad antimicrobiana de bacilos Gram-negativos no fermentadores aislados de pacientes con infección del tracto urinario asociado a catéter.....	58
<b>Tabla 14.</b> Susceptibilidad antimicrobiana de bacterias Gram-positivas aisladas de pacientes con infección del tracto urinario asociado a catéter.....	60
<b>Tabla 15.</b> Susceptibilidad antifúngica de <i>Candida</i> spp. y <i>Cryptococcus laurentis</i> aisladas de pacientes con ITUAC.....	61

<b>Tabla 16.</b> Características fenotípicas de las cepas de enterobacterias resistentes a $\beta$ -lactámicos.....	62
<b>Tabla 17.</b> Características genotípicas de las cepas de enterobacterias resistentes a $\beta$ -lactámicos.....	64
<b>Tabla 18.</b> Tipificación por Rep-PCR y distribución clonal de las cepas de <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> y perfil genético para la producción de $\beta$ -lactamasas.....	65
<b>Tabla 19.</b> Características epidemiológicas y distribución clonal de las cepas de <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i> productoras de $\beta$ -lactamasas en pacientes con ITUAC.....	67

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

**LISTA DE FIGURAS**

**Figura 1.** Mecanismos de resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos.....22

**Figura. 3** Etapas de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....32

**Figura 4.** Distribución de los pacientes de acuerdo al número de antibióticos prescritos al momento de tomar urocultivo.....49

**Figura 4.** Clasificación de los microorganismos aislados en los urocultivos positivos..... 50

**Figura 5.** Prueba del sinergismo de doble disco para la determinación fenotípica de  $\beta$ -lactamasa de espectro extenso (BLEE).....55

**Figura 6.** Pruebas fenotípicas de cepas productoras de carbapenemasas.....56

**Figura 7.** Electroforesis del Rep-PCR y dendograma que muestra la relación clonal de las cepas de *E. coli* aisladas de ITUAC.....65

**Figura 8.** Electroforesis del Rep-PCR y dendograma que muestra la relación clonal de las cepas de *K. pneumoniae* aisladas de ITUAC.....65

**RESUMEN**

**Objetivo:** Determinar el perfil microbiológico de las ITUAC en pacientes hospitalizados en las áreas de hospitalización de Medicina Interna del IAHULA y caracterizar microbiológica y genéticamente las cepas de enterobacterias resistentes a los  $\beta$ -lactámicos aisladas en pacientes con esta patología. **Materiales y métodos:** Se obtuvieron 73 muestras de orina de pacientes con ITUAC durante el período enero a julio de 2015. Las cepas aisladas fueron identificadas con el sistema VITEK 2 y las pruebas de susceptibilidad fueron determinadas por concentración inhibitoria mínima. El análisis molecular de los genes codificantes para  $\beta$ -lactamasas de espectro extenso y carbapenemasas se realizaron por amplificación de PCR y la tipificación de las cepas se llevó a cabo por la técnica Rep-PCR. **Resultados:** Los patógenos más frecuentes en ITUAC en el IAHULA fueron las levaduras, seguidas por las enterobacterias. Estas últimas agruparon diferentes tipos de BLEEs y carbapenemasas. El análisis de las relaciones genéticas de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* reveló que en ambos grupos bacterianos se concentraron mayoritariamente en la unidad de trauma shock de la emergencia de adulto. Este hallazgo indica que esta área se comporta como el principal nicho para el intercambio y recombinación de genes codificantes para BLEE y carbapenemasas en bacterias Gram-negativas y representa el área de mayor riesgo y distribución de clonas multirresistentes. **Conclusión:** Se evidencia la necesidad urgente de implementar programas para prevenir y controlar la diseminación de clonas bacterianas multirresistentes, así como establecer estrategias efectivas que permitan racionalizar el uso de los antimicrobianos. **Palabras clave:** Infección Urinaria Complicada; Catéter, Enterobacterias;  $\beta$ -lactamasa; Carbapenemasas.

**ABSTRACT**

**Objective:** To determine the microbiological profile of the AC-UTI in hospitalized patients in the internal medicine service of the IAHULA and characterize microbiological and genetically strains of enterobacterias resistant to  $\beta$ -lactam antibiotics isolated from patients with this pathology. **Material and methods:** 73 urine samples from patients with AC-UTI were obtained during the period January to July 2015. Isolates were identified with the VITEK 2 system and susceptibility testing was determined by minimum inhibitory concentration. The molecular analysis of the genes coding for extended spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases carried out by PCR amplification and typing of strains was performed by Rep-PCR technique. **Results:** The most common pathogens caused AC-UTI were yeast, followed by enterobacteria. These bacteria produced different types of ESBL and carbapenemases. The analysis of the genetic relationships of strains of *E. coli* and *K. pneumoniae* revealed that in both bacterial groups were concentrated mainly in the shock trauma unit of the adult emergency. This finding indicates that this area acts as the main niche for exchange and recombination of genes coding for ESBLs and carbapenemases in Gram negative bacteria and represents the area of greatest risk and distribution of multi-resistant clones. **Conclusion:** The urgent need to implement programs to prevent and control the spread of multi-resistant bacterial clones and establish effective strategies to rationalize the use of antimicrobials is evident.

**Keywords:** Complicated urinary tract infection; Catheter, Enterobacteriaceae;  $\beta$ -lactamase; Carbapenemases.

## ❖ INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario (ITU) es una patología infecciosa frecuente que afecta a pacientes ambulatorios y hospitalizados. El término incluye patologías que pueden afectar en su totalidad las diversas estructuras de las vías urinarias, mostrando comportamientos distintos en cuanto a la clínica y gravedad del cuadro que producen <sup>1,2,3</sup>.

La incidencia de ITU varía en función de la edad y el sexo. En la edad adulta, existe una mayor prevalencia en la mujer <sup>4,5</sup>. En los extremos de la vida y en especial en la vejez, la incidencia de ITU aumenta en ambos sexos. Este aumento se ve más acentuado en varones incrementando su frecuencia después de los 50 años, debido a factores probablemente relacionados con patologías prostáticas <sup>4,5,6,7,8,9,10</sup>.

Las ITU constituyen la causa más frecuente de infecciones asociadas a cuidados de salud, afectando aproximadamente 4 de cada 10 pacientes que se hospitalizan. Lo que las ha relacionado con una elevada morbi-mortalidad, con altos costos de atención y de una estancia hospitalaria prolongada <sup>2</sup>.

A esto se le asocia el uso común de catéteres vesicales en la gran mayoría de pacientes admitidos en las salas de hospitalización. Entre 15% y 25% de los pacientes hospitalizados pueden recibir un catéter vesical de corto o mediano plazo<sup>3</sup>. El riesgo de ITU se ve ampliamente aumentado durante la cateterización vesical situándose entre 3% y 10% por día y alcanzando un 100% al día 30 de permanencia con el catéter <sup>5,10</sup>. Esto ha permitido la aparición de un subgrupo de entidades conocidas como ITU asociadas a catéter (ITUAC) <sup>2,10</sup>.

Los agentes etiológicos más frecuentemente involucrados en estas patologías son los bacilos Gram-negativos, siendo responsable *E. coli* en un 80% de los casos de ITU

adquiridas en la comunidad (ITUC) y un 40% de las nosocomiales <sup>1, 6, 8</sup>. Encontrándose otros gérmenes implicados como *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. y *Enterobacter* spp. seguidos por *Enterococcus* spp. y *Staphylococcus* spp. generalmente asociados a pacientes con alteración anatómica del tracto urinario <sup>24</sup>.

El actual surgimiento de resistencia bacteriana a los antibióticos en patógenos productores de las ITU y por ende de ITUAC en hospitales, constituye una circunstancia que amenaza con interrumpir y afectar los esquemas de tratamientos actuales más frecuentemente utilizados en este tipo de patología, convirtiéndose en un grave problema debido la alta incidencia de esta entidad, aumentando el riesgo de posibles complicaciones, estancia hospitalaria y costos al servicio de salud <sup>2, 10, 11</sup>.

La resistencia antimicrobiana está relacionada con la prescripción no adecuada y abusiva de antibióticos, irregularidad en el cumplimiento de los mismos, pacientes que reciben varios antibióticos y tratamientos empíricos indiscriminados. Generando cepas resistentes a medicamentos de uso convencional intrahospitalario <sup>11, 12, 13</sup>.

Como consenso se acepta que con una tasa de resistencia local inferior al 20% se puede prescribir tratamiento empírico en la ITU, y que resistencias mayores pueden llegar a causar una falla terapéutica con la aparición de posibles complicaciones <sup>6, 11, 14</sup>. Aunque otros autores aseguran que en el caso de las ITUAC se debe siempre esperar el cultivo para determinar sensibilidad y especificidad del antibiótico al microorganismo encontrado antes del uso de cualquier antimicrobiano, esta situación es muchas veces difícil de cumplir en lo cotidiano contribuyendo al probable mal uso de estas drogas y por consiguiente, favoreciendo la resistencia bacteriana <sup>1, 11, 15</sup>.

La incidencia de resistencia a los antimicrobianos ha experimentado importantes variaciones en centros de salud de todo el mundo e incluso puede variar de un área a otra de un mismo centro. Por tal motivo, el tratamiento de tales infecciones requiere constantes actualizaciones sobre la susceptibilidad a los antimicrobianos de uso frecuente y de los principales agentes patógenos encontrados en los distintos hospitales, así mismo se requiere el conocimiento de los perfiles de resistencia local para lograr un mayor éxito terapéutico y evitar complicaciones <sup>6</sup>.

En Venezuela no existen registros sobre el perfil microbiológico y los patrones de resistencia antimicrobiana de los patógenos productores ITUAC en hospitales públicos. Por tal motivo, en este estudio se determinó el patrón microbiológico de las ITUAC, además dilucidar los mecanismos moleculares involucrados en la resistencia antimicrobiana de cepas de enterobacterias productoras de esta patología en pacientes hospitalizados en los servicios de Medicina Interna del IAHULA.

## ❖ MARCO TEÓRICO

Las ITU de origen nosocomial ocupan aproximadamente el 45% del total de las infecciones intrahospitalarias <sup>4</sup>. Sin embargo cuando se asocian al difundido uso de catéteres vesicales adquieren un comportamiento propio y particular <sup>2</sup>, la frecuencia de ITUAC se sitúa en el 80% de las ITU hospitalarias, además representan complicaciones complejas al paciente, prolongan la estancia hospitalaria, incrementan acentuadamente la necesidad de uso de antibióticos, son causa de mortalidad y elevan los costos administrativos para su manejo.<sup>2,5</sup>

Diversos elementos se han asociado con el desarrollo de ITUAC, las edades extremas de la vida, el sexo femenino y la presencia de comorbilidades como diabetes predisponen en su aparición <sup>5, 7, 22, 23, 24, 25</sup>. Sin embargo la duración de la cateterización es el factor predisponente de mayor peso. Se estima que en los pacientes portadores de sonda vesical conectada a un sistema de drenaje cerrado la posibilidad de padecer ITUAC oscila entre un 3% y un 10% por cada día de cateterización alcanzando un 100% al día 30 <sup>4,5</sup>.

Las fuentes de infección pueden ser de tipo endógenas por colonización del catéter por la flora normal del meato urinario, recto o vagina. O puede ser de tipo exógena por inadecuadas medidas de asepsia durante la cateterización vesical por parte del personal de salud o mal estado de los equipos utilizados. Los patógenos pueden ingresar por vía extraluminal colonizando la parte externa del dispositivo, o por vía intraluminal donde los microorganismos ingresan a la luz del catéter desde de los sitios de conexión y drenaje. El crecimiento bacteriano de un microorganismo intraluminal puede ser del orden de  $10^5$  UFC/mL (unidades formadoras de colonia por mililitro de orina) en las primeras 24-48 horas y su presencia está fuertemente relacionada con el desarrollo de ITUAC <sup>2,5</sup>.

Desde un punto de vista práctico conviene diferenciar entre el uso transitorio del catéter vesical, un cateterismo prolongado y uno permanente. La distinción es relevante a la hora de considerar el riesgo de ITUAC, la posibilidad de presencia de bacteriuria y prevenir el espectro de complicaciones esperadas <sup>26</sup>.

**Cateterismo de corta duración:** Es aquel donde los pacientes son sometidos a la cateterización urinaria conectada a un sistema de drenaje cerrado durante cinco o menos días. La mayor parte de los episodios de bacteriuria en éste periodo de tiempo son asintomáticos, menos del 10% de los individuos presentan síntomas relacionados a ITUAC y la tasa de bacteriemia secundaria al foco urinario es inferior al 2% <sup>2, 26, 27</sup>.

**Cateterismo prolongado:** Es aquel donde el paciente permanece con catéter vesical posicionado durante 8 a 30 días. Al cabo de 2 semanas, alrededor del 50% de los pacientes sondados presenta bacteriuria intensa asociada con ITUAC y ésta es prácticamente universal después de los 30 días <sup>27</sup>.

**Cateterismo permanente:** Son aquellos pacientes portadores de sonda vesical durante un periodo mayor a 30 días <sup>28</sup>. En éstos individuos las ITUAC son bastante comunes. El riesgo llega a ser 60 veces superior al de los pacientes no cateterizados y se ha relacionado con la presencia superior de complicaciones graves como bacteriemia y sepsis y shock séptico <sup>26, 2, 29</sup>.

Los bacilos gramnegativos de la familia de las enterobacteriaceae son los agentes etiológicos más frecuentemente involucrados en ITUAC. Encontramos que *E. coli* representa el 40% seguida por especies de *Proteus* spp, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp en los aislamientos en las ITU de origen nosocomial asociadas a catéter <sup>6, 7, 8, 25, 29</sup>. Sin embargo según características innatas de cada paciente, de la flora hospitalaria local y del

cuidado del catéter vesical se encuentra con frecuencia especies de bacilos Gram-negativos no fermentadores como *Pseudomonas* spp y bacterias Gram-positivas como *Enterococcus* spp y *Staphylococcus* spp, el tercero en frecuencia lo ocupan las levaduras <sup>25</sup>.

***Escherichia coli* como patógeno principal en ITU.**

*Escherichia coli* fue descrita por primera vez en 1885 por el alemán Theodor Escherich quien la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente en 1919 es renombrada con su actual denominación en honor a su descubridor <sup>30</sup>. Esta bacteria coloniza el intestino del ser humano pocas horas después de su nacimiento llegando a ser considerada como flora normal, es decir no productora de enfermedad. Sin embargo ciertas cepas son altamente patógenas y causan diferentes cuadros clínicos <sup>31</sup>.

Desde el punto de vista taxonómico *E. coli* pertenece al **Dominio:** Bacteria, **Phylum:** Proteobacteria, **Clase:** Gammaproteobacteria, **Orden:** Enterobacteriales, **Familia:** *Enterobacteriaceae*, **Género:** *Escherichia* <sup>32, 33, 34</sup>.

Esta especie bacteriana tiene la característica de ser un bacilo Gram-negativo móvil, aerobio y anaerobio facultativo, que presentan flagelos peritricos; además de fimbrias o pilis. Muchas cepas producen una pequeña microcápsula, mientras que existe un escaso número que elaboran macrocápsula; y no producen esporas <sup>35</sup>.

*E. coli* representa una amplia familia dentro de las enterobacterias donde se incluyen; cepas no patógenas (comensales intestinales) y cepas patógenas capaces de producir según sus características múltiples enfermedades como: ITU, infecciones intestinales, meningitis, bacteriemia y sepsis, celulitis y una amplia variedad de infecciones nosocomiales <sup>36,37</sup>.

Las cepas patógenas de *E. coli* se pueden clasificar en dos grandes grupos: 1) enteropatógenos causantes de una gran variedad de cuadros diarreicos, y 2) Las cepas

patógenas extraintestinales conocidas como ExPEC(*del inglés*, Extraintestinal Pathogenic *E.coli*), capaces de producir enfermedad en casi todos los órganos y localizaciones anatómicas del hospedero humano <sup>36, 37, 38</sup>.

Las cepas causantes de infecciones extraintestinales (ExPEC) se clasifican según el cuadro clínico que producen: *E. coli* asociada a meningitis neonatal (ECMN), *E. coli* asociadas a sepsis (ECSEP) y *E. coli* uropatógena (ECUP) <sup>38</sup>.

Entre los factores de virulencia presentes en la mayoría de las cepas ExPEC, destacan los factores implicados en la adherencia de las bacterias a las células o adhesinas (fimbrias tipo S y fimbrias tipo P), factores que permiten evitar o sobrevivir a los sistemas de defensa del hospedero (como cápsulas y lipopolisacáridos), mecanismos de adquisición de nutrientes (siderófos, sistemas de adquisición de hierro), mecanismos de resistencia al suero, proteasas, invasinas y toxinas (hemolisina y factor citotóxico necrosante) (Tabla 1) <sup>1, 39, 40, 41</sup>.

Los genes de virulencia de ExPEC, están frecuentemente localizados en plásmidos, transposones, bacteriófagos o islas de patogenicidad (IP) que son elementos genéticos móviles que pueden transmitirse vertical y horizontalmente de una cepa a otra. Además pueden albergar genes relacionados con resistencia a los antimicrobianos, tales como  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) <sup>1,40, 41, 42, 43</sup>.

**Tabla 1.** Principales factores de virulencia de *E. coli*.

Superficie		Función
Adhesinas	Fimbriadas	Fimbrias P (alelos I, II y III) Fimbrias tipo 1 Fimbria F1C Fimbria S
	No fimbriadas (adhesinas X)	Adhesinas del antígeno Dr Adhesinas AFA y AFA III Adhesina M
Flagelo		Movilidad y adaptación
Mecanismos evasores de las defensas del hospedero	Cápsula	K1, K2, K13, K5
	Lipopolisacáridos	O6, O4, O1, O2, O18, O83, O7
	Proteínas de membrana externa	Receptor y transporte
	Resistencia al suero	Proteína Trt *Plásmidos Col V
Exportado		Función
Toxinas	$\alpha$ -hemolisina	Citotoxicidad y hemólisis
	Factor citotóxico necrosante	Interferencia en la fagocitosis y apoptosis
	Toxina citoletal distensiva	Citotoxicidad
	Citolisina A	
	Toxina secretada autotransportadora	
Sistema de captación de hierro (sideróforos)	Aerobactina Yersiniabactina Enterobactina	Captación de hierro
Invasinas	Invasinas del endotelio cerebral	Antígeno K1 Permite la invasión de cepas de <i>E. coli</i> al SNC de neonatos

**Fuente:** Pacheco y Col<sup>44</sup>, Emödy y col<sup>44</sup>, Andreu y Col<sup>46</sup>.

**Resistencia de *Enterobacteriaceae* a los antimicrobianos de uso frecuente en ITU.**

El surgimiento reciente de la resistencia bacteriana a los antibióticos en patógenos productores de las ITU, tanto en hospitales como en la comunidad, constituye una circunstancia grave que amenaza con interrumpir y afectar los esquemas de tratamientos actuales más frecuentemente utilizados en este tipo de patología como lo son: ampicilina, trimetoprim/sulfametoxazol, quinolonas, entre otros <sup>9, 10, 11</sup>. Se ha considerado que para prescribir un tratamiento empírico en la ITU es necesario que las tasas de resistencia sean inferiores al 20%; resistencias mayores pueden llegar a causar una amplia morbilidad y un costo superior cuando se requiere una mayor estancia hospitalaria, con el agravante de que aparezcan las complicaciones <sup>6, 11, 14</sup>. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que la prescripción no adecuada y abusiva de los antibióticos, la prolongación de los planes terapéuticos más allá de lo necesario, la irregularidad en la toma de las drogas y la automedicación son unas de las principales causas del incremento de la resistencia bacteriana en todo el mundo <sup>12</sup>. En el caso de *E. coli* y el resto de los uropatógenos, la resistencia se atribuye también, al uso de tratamientos empíricos indiscriminados que genera portadores de cepas con resistencia múltiple a medicamentos de uso convencional <sup>11</sup>.

Tomando en consideración que ECUP puede tener un arsenal importante de mecanismos de resistencia a los antibióticos de uso frecuente en ITU y que la utilización de algunos medicamentos pudiera llevar a falla terapéutica en caso de existir resistencia, se hace necesario el conocer de qué forma esta bacteria establece resistencia a los antimicrobianos utilizados. (Tabla 2) <sup>30</sup>.

**Tabla 2.** Principales mecanismos de resistencia antibiótica de *Enterobacteriaceae*.

Familia de antibióticos	Mecanismo de acción	Mecanismos de resistencia	Genes implicados
$\beta$ -lactámicos	Interfiere en síntesis del peptidoglicano, componente necesario en la formación de la pared bacteriana.	$\beta$ -lactamasas: enzimas que hidrolizan el enlace amida del núcleo $\beta$ -lactámico, inactivando el antibiótico.	<i>bla</i> TEM, <i>bla</i> SHV, <i>bla</i> CARB, <i>bla</i> OXA, <i>bla</i> CTX-M y <i>bla</i> GES.
Quinolonas	Inhiben la acción de la topoisomera y de la ADN girasa bacteriana.	Mutaciones puntuales en el blanco del antibiótico. Sistemas de expulsión. Presencia de genes de plasmídicos de resistencia antibiótica.	Mutaciones del <i>gyrA</i> (gen que codifica una subunidad de la ADN girasa) y <i>parC</i> (gen que codifica una subunidad de la topoisomerasa IV). genes <i>AcrAB</i> -like genes <i>qnr</i> (A, B, C, D S) que codifican proteínas <i>Qnr</i> que impiden la unión del antibiótico al blanco. Gen que codifica la variante <i>cr</i> de la acetiltransferasa 6' capaz de acetilar fluoroquinolonas.
Tetraciclinas	Unión a la subunidad 30s del ribosoma bacteriano.	Presencia de bombas de eflujo.	genes <i>tetA</i> y <i>tetB</i>
Cloramfenicol	impide la síntesis de proteínas al unirse a la peptidiltransferasa del ribosoma en la subunidad 70S	Inactivación por acetilación y existen Bombas de eflujo	gen <i>cat</i> para síntesis de la enzima cloranfenicol acetiltransferasa Genes <i>floR</i> y <i>cmlA</i>
Trimetropim Sulfametoxazol	Inhibe la síntesis de enzimas necesarias en la ruta del ácido fólico bacteriano como la dihidropteroato sintasa y la enzima dihidrofolato reductasa.	Presencia de genes que codifican formas mutantes de la enzima blanco	Genes <i>sul1</i> y <i>sul2</i> y genes <i>dfr</i>

Fuente: Mosquito y col <sup>50</sup>.

**Resistencia de enterobacterias a los  $\beta$ -lactámicos.**

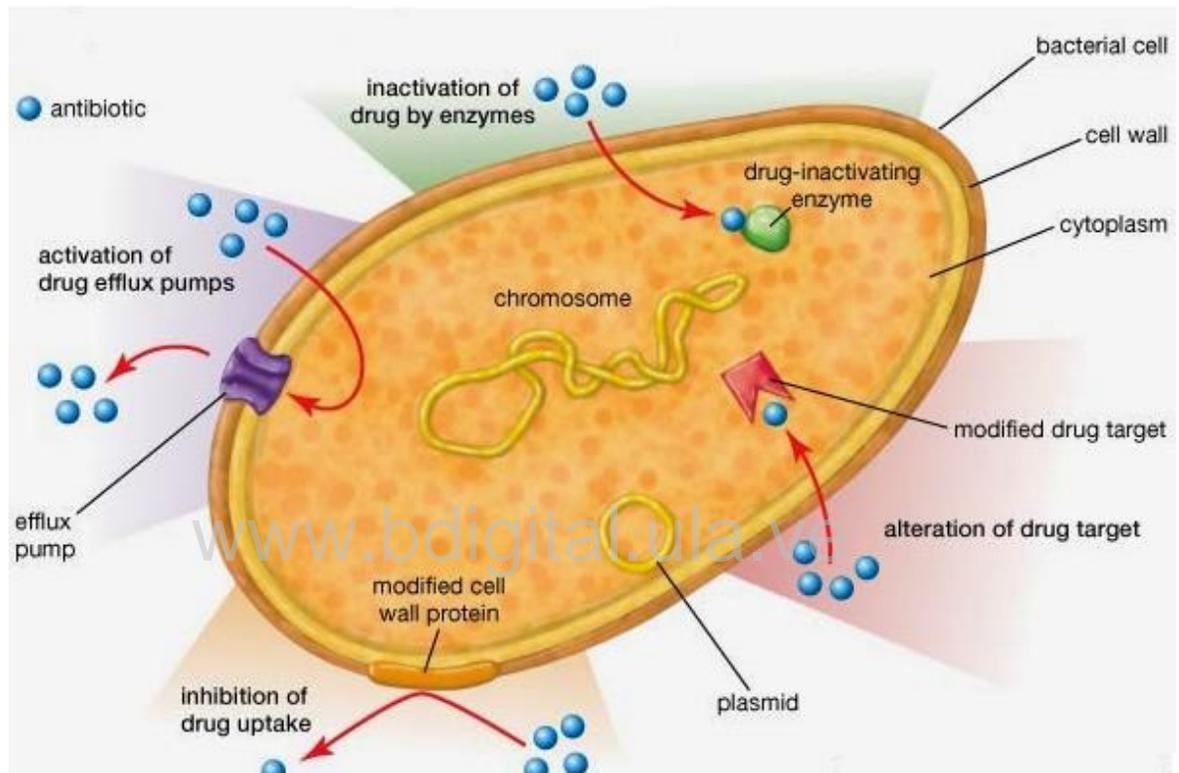
Los  $\beta$ -lactámicos, son antibióticos de acción bactericida que actúan sobre la fase final de la síntesis del peptidoglicano. Actúan como sustratos competitivos de distintas enzimas participantes en la síntesis de membrana, esencialmente de las transpeptidasas denominadas proteínas fijadoras de penicilina (PBP), ya que presentan una similitud estructural con el extremo D-alanina-D-alanina del pentapéptido que enlaza las cadenas de *N*-acetilmurámico y *N*-acetilglucosamina del peptidoglicano. En presencia de antibiótico, las transpeptidasas hidrolizan el enlace amida del anillo  $\beta$ -lactámico y se forma un éster estable entre el compuesto hidrolizado y un grupo hidroxilo de la serina del sitio activo de la enzima. Con ello se inhibe la transpeptidación, se desestabiliza la pared celular y finalmente se produce la lisis bacteriana mediada por autolisinas. Este grupo incluyen las penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenemos y monobactámicos, entre otros antibióticos clínicamente útiles<sup>50, 51</sup>. La resistencia a  $\beta$ -lactámicos está mediada por varios mecanismos (Fig. 2):

1. Alteración de la diana (PBP).
2. Disminución de la permeabilidad.
3. Mecanismos de eflujo o expulsión del antibiótico.
4. Inactivación enzimática por  $\beta$ -lactamasas
  - a.  $\beta$ -lactamasas cromosómicas.
  - b.  $\beta$ -lactamasas plasmídicas: Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)<sup>52</sup>.

El mecanismo más utilizado por los bacilos Gram-negativos para adquirir resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, ya sea que esto ocurra de manera natural o adquirida, es la

inactivación de las drogas por las enzimas denominadas  $\beta$ -lactamasas, capaces de hidrolizar el enlace amida del anillo  $\beta$ -lactámico <sup>50, 51, 52</sup>.

**Figura 1.** Mecanismos de resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos.



**Fuente:** Mandell y Col <sup>22</sup>.

### **$\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE).**

En las enterobacterias, se ha estudiado ampliamente la producción de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), las cuales son enzimas que se caracterizan por ser capaces de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de espectro extendido y monobactámicos, son sensibles a los carbapenemos pero, son inhibidas por el ácido clavulánico. Las BLEE han evolucionado como resultado de mutaciones en el centro activo de las  $\beta$ -lactamasas

plasmídicas clásicas TEM y SHV excepto la CTX-M. Estas mutaciones originan cambios en la secuencia de la cadena aminoacídica, como respuesta a la presión ejercida por el amplio uso de las cefalosporinas de tercera generación, permitiendo modificar su perfil de sustrato, mejorando su capacidad de hidrólisis frente a los  $\beta$ -lactámicos de amplio espectro. Estas enzimas generalmente están codificadas en genes que se encuentran frecuentemente en elementos extracromosómicos como los plásmidos <sup>51, 52, 53</sup>.

Las BLEE se agrupan de acuerdo con dos sistemas generales, el de Ambler (1980) según la similitud en la secuencia de aminoácidos y el de Bush, Jacoby y Medeiros (1995), clasificadas según sus propiedades fenotípicas. De acuerdo con el esquema de Ambler, las  $\beta$ -lactamasas pueden dividirse en cuatro clases moleculares diferentes (A, B, C y D), cada una con una secuencia de aminoácidos distinta, donde las BLEE derivadas de SHV y TEM pertenecen a las enzimas de clase A, mientras que las BLEE derivadas de OXA pertenecen a la clase D (Tabla 3). En la clasificación de Bush y colaboradores, las BLEE se localizan en dos subgrupos del grupo 2, llamados 2be (principalmente BLEE derivadas de TEM y SHV) y 2d (BLEE derivadas de OXA) <sup>53</sup>.

### **Tipos de $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE).**

**TEM:** Esta enzima se encuentra diseminada por todo el mundo, y es, en la actualidad, el mecanismo de resistencia más común de las bacterias Gram-negativas al grupo de los  $\beta$ -lactámicos. Es responsable de más del 90% de la resistencia de *E. coli* a la ampicilina. TEM-2 deriva de TEM-1 por una mutación puntual. La primera variante TEM con fenotipo de BLEE se aisló en 1987 y fue denominada TEM-3, fruto de una mutación puntual de la enzima TEM-1. A partir de entonces, se ha presentado un rápido incremento

en el número y en la diversidad de las variantes de TEM con espectro extendido. Hoy en día, se conoce que las mutaciones puntuales en el gen parental *bla*<sub>TEM-1</sub>, que han dado lugar a las enzimas caracterizadas como BLEE, tienen un número limitado de posiciones. Cada una de estas enzimas presenta una especificidad de sustrato y un punto isoelectrico determinado <sup>53</sup>.

**SHV:** La mayoría de estas enzimas SHV se encuentran en cepas de *K. pneumoniae*; sin embargo, también se han identificado en *Citrobacter diversus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. La enzima progenitora, SHV-1, sólo tiene actividad contra penicilinas de amplio espectro como: ampicilina, ticarcilina y piperacilina. No obstante, como resultado de mutaciones puntuales, su espectro ha sido ampliado a cefalosporinas de tercera generación, denominándose SHV-2. En la actualidad, existen alrededor de 150 tipos distintos de la  $\beta$ -lactamasa SHV; la mayoría de estas  $\beta$ -lactamasas tienen fenotipo BLEE, y algunas han sido reportadas como SHV-10, que tienen fenotipo de resistencia a inhibidores de  $\beta$ -lactamasas <sup>53</sup>.

**CTX-M:** Es una nueva familia de  $\beta$ -lactamasas con un espectro ampliado de sustrato, que hidroliza de manera preferencial a cefotaxima y tiene actividad intrínseca contra cefalosporinas de tercera generación, sin requerir mutaciones adicionales, a diferencia de las antiguas BLEE. En la actualidad, son consideradas las más ampliamente diseminadas en el mundo. Estas se hallan codificadas en plásmidos transferibles y se encuentra, principalmente, en cepas de *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium y en *E. coli*, pero también ha sido descrita en otras especies de enterobacterias, como *Klebsiella pneumoniae*, *C. freundii*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* y *E. aerogenes* <sup>53, 54, 55</sup>.

En este grupo se incluye a las enzimas denominadas CTX-M (activas frente a la cefotaxima) como la CTX-M-1 (también llamada MEN-1), desde la CTX-M-2 hasta CTX-M-58 y las enzimas Toho 1 y Toho 2. Se clasifican filogenéticamente en 6 grupos (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 y CTX-M-45), distanciados evolutivamente unos de otros, ya que no comparten más de un 94% de identidad; el grupo CTX-M-1 incluye 6 enzimas mediadas por plásmidos (CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-10, CTX-M-12, CTX-M-15 y FEC-1) y las enzimas no publicadas CTX-M-22, CTX-M-23, y CTX-M-28; el grupo CTX-M-2 está conformado por 8 enzimas (CTX-M-2, CTX-M-4, CTX-M-4L, CTXM-5, CTX-M-6, CTX-M-7, CTX-M-20 y Toho-1), mientras que el grupo CTX-M-8 está representado por una sola enzima. El grupo CTX-M-9 consta de 9 enzimas (CTX-M-9, CTX-M-13, CTX-M-14, CTX-M-16, CTX-M-17, CTX-M-19, CTX-M-21, CTX-M-27 y Toho-2) y otras 2 enzimas no publicadas, una de ellas es la CTX-M-24 y el grupo CTX-M-25 que incluye sólo 2 enzimas (CTX-M-25 y CTX-M-26) y por último el grupo CTX-M-45 conformada por un sola representante <sup>53, 54, 55</sup>.

Estas enzimas muestran tan solo un 40% de similitud con las  $\beta$ -lactamasas tipo TEM y SHV, sin embargo los genes *bla*<sub>CTX-M</sub> poseen un alto grado de similitud con los genes cromosómicos *bla*<sub>KLUA</sub> que codifican las  $\beta$ -lactamasas del genero *Kluyvera*. Por lo cual, se considera que los grupos CTX-M-1 y CTX-M-2 derivan de las  $\beta$ - lactamasas cromosómicas de *Kluyvera ascorbata*, mientras que los grupos CTX-M-8 y CTX-M-9 derivan de las  $\beta$ -lactamasas cromosómicas de *Kluyvera georgiana* <sup>55</sup>.

**Tabla 3.** Clasificación de las β-lactamásas bacterianas

β-lactamasas	Bush, Jacoby y Medeiros	Molecular (Ambler)	Familias β-lactamasas	Sustratos
Espectro ampliado	2b	A	TEM-1, TEM-2, SHV-1	Aminopenicilinas, Carboxipenicilinas, Ureidopenicilinas, Cefalosporinas de espectro estrecho**
	2d	D	OXA-1 a OXA-10, PSE-2 (OXA-10)	El mismo sustrato de TEM-1, TEM-2, SHV-1, más cloxacilina, meticilina y oxacilina
Espectro extendido (BLEE)	2be	A	TEM-3 a TEM-26 SHV-2 A SHV-6, K1 de <i>K. oxytoca</i>	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefalosporinas de tercera generación** y aztreonam
	2br		TEM-30 a TEM-36, TRC-1	
	2d	D	OXA-1 a OXA-10	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefepima para algunas enzimas
			Familia CTX-M	El mismo sustrato del grupo de espectroampliado más cefepima para algunas enzimas
	ND*	A	Otras (BES-1, familia GES/IBC, PER-1, PER-2, SFO-1, TLA-1, VEB-1 y VEB-2)	El mismo sustrato de la familia TEM y SHV.
AmpC	ND*	C	ACC-1, ACT-1, CFE-1, familia CMY, DHA-1, DHA-2, familia FOX, familia LAT, MIR-1, MOX-1 y MOX-2	El mismo sustrato del grupo de espectro ampliado más cefamicinas**
Carbapenemasas	ND*	B	Familia IMP, familia VIM, GIM-1 y SPM-1	El mismo sustrato del grupo de espectro extendido más cefamicinas**, y carbapenémicos
	ND*	A	KPC-1, KPC-2 y KPC-3	El mismo sustrato del grupo de la familia IMP, familia VIM, GIM-1 y SPM-1
	ND*	D	OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27, OXA-40 y OXA-48	El mismo sustrato del grupo de la familia IMP, familia VIM, GIM-1 y SPM-1

\* No determinado, \*\* Benzilpenicilinas, penicilina G; aminopenicilinas, amoxicilina y ampicilina; carboxipenicilinas, carbenicilina y ticarcilina; ureidopenicilinas, piperacilina; cefalosporinas de espectro estrecho, cefazolina, cefalotina, cefamandol y cefuroxima, entre otras; cefalosporinas de tercera generación, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, y ceftriaxona; carbapenémicos, ertapenem, imipenem, y meropenem; cefamicinas, cefotetan, cefoxitin.

**Fuente:** Cortés y col <sup>53</sup>.

Las metalo-enzimas tienen la capacidad de hidrolizar a todas las penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. De acuerdo con la secuencia nucleotídica de los genes que codifican para las metalo  $\beta$ -lactamasas y las características estructurales de cada enzima, éstas han sido divididas en tres subclases en el grupo B de la clasificación molecular de Ambler. La subclase B1 agrupa a las enzimas inducibles o asociadas a plásmidos. En este grupo se encuentran las de tipo IMP, VIM, SPM, GIM y SIM. Las subclases B2 y B3 agrupan las metalo  $\beta$ -lactamasas cromosómicas derivadas de *Aeromonas* spp, *Serratia fonticola* y *Stenotrophomonas maltophilia*.<sup>53-55</sup>

En bacilos Gram-negativos se han detectado cuatro de los cinco tipos de metalo  $\beta$ -lactamasas que constituyen la subclase B1 (IMP, VIM, SPM y GIM). Los genes que codifican para estas enzimas se encuentran asociados a transposones e integrones, los cuales están frecuentemente localizados en plásmidos grandes (80-120 kb), donde usualmente se transportan otros determinantes de resistencia<sup>53</sup>.

### **Epidemiología e impacto clínico de la ITAC causada por enterobacterias multirresistente.**

La prevalencia de BLEE es elevada en las infecciones nosocomiales, de manera que si en bacteriemias comunitarias por ECUP el rango de prevalencias es del 5 al 15%, en el caso de las nosocomiales es 10 al 25%. La mayoría de los estudios realizados incluyen porcentajes elevados de pacientes con ITU, y uno de los principales factores de riesgo, tanto en la ITU comunitaria como en la nosocomial, es la presencia de catéter y las ITU de repetición. Otro factor de riesgo a considerar para sospechar una infección ITU por enterobacterias productora de BLEE es la utilización reciente de cefalosporinas de tercera generación y/o fluorquinolonas. Aunque la mayoría de los pacientes con ITU, complicada o no, tienen uno

o más factores de riesgo, el hecho de que las BLEE se estén diseminando en la población podría aumentar la probabilidad de que ocurran infecciones en personas sin factores de riesgo <sup>4, 57</sup>.

Desde el año 2000, *E. coli* productora de enzimas CTX-M ha surgido a lo largo y ancho de nuestro planeta como una causa importante de ITU <sup>58</sup>. Este fenómeno se ha venido acelerando rápidamente, especialmente durante los últimos 5 años <sup>59</sup>. A pesar de que muchos miembros de la familia *Enterobacteriaceae* productores de enzimas CTX-M han participado en infecciones nosocomiales, *E. coli* productora de CTX-M es considerada como el agente responsable en un alto porcentaje de las infecciones de origen comunitario y nosocomial <sup>58</sup>. En la actualidad, la enzima CTX-M más ampliamente distribuida en el mundo es la CTX-M-15, la cual fue detectada por primera vez en una cepa de *E. coli* procedente de la India en el año 2001 <sup>60</sup>. La aparición y la propagación en el mundo de la enzima CTX-M-15 ha cambiado la visión sobre la epidemiología de las BLEEs, actualmente este tipo de enzima se encuentra con mucha frecuencia en gran parte del territorio mundial <sup>61, 62</sup>.

Según el Sistema de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos de Europa (*sus siglas en inglés EARSS*), la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación en este continente ha venido en ascenso, debido principalmente al aislamientos de cepas de *E. coli* productoras de BLEEs, de las cuales predominan las del tipo CTX-M, y de estas la CTX-M-15 <sup>62, 63</sup>.

En América del Norte, la prevalencia de BLEE entre los aislamientos de *K. pneumoniae* y *E. coli* se encuentra en un rango de 5-10% (*E. coli* 7,5% y *K. pneumoniae* 12,3%). Los tipos de enzimas más frecuentes en esta región han sido TEM-26, TEM-6, TEM-10 y TEM-

12<sup>56</sup>. Sin embargo, actualmente se observa un incremento de las enzimas CTX-M<sup>61,64</sup>. En los Estados Unidos las enzimas CTX-M eran extremadamente raras, aunque en el presente se han descrito cepas de *E. coli* productoras de CTX-M en algunas zonas de ese país<sup>65,66</sup>. En un estudio realizado en Pensilvania durante el año 2007 se encontró que de 291 bacterias aisladas productoras de CTX-M, el 48% correspondió a cepas de *E. coli*<sup>65</sup>. En otra investigación realizada en ese mismo Estado se pudo determinar que de 70 cepas de *E. coli* productoras de BLEEs, la enzima CTX-M predominó en un 81%, hallándose en la mayoría de los casos la CTX-M-15<sup>66</sup>. En Calgary, Canadá, se observó un aumento sustancial en la producción de BLEEs en aislados clínicos de *E. coli* desde 2005 al 2007, principalmente debido a la difusión de clon ST131, con producción acentuada de CTX-M-15 y CTX-M-14<sup>58</sup>.

En Latinoamérica, las BLEEs representan un serio problema de salud pública, con proporciones alarmantes de prevalencia en esta región, que alcanza tasas preocupantes en Colombia, Guatemala, Perú, México, Venezuela, Ecuador, Argentina, Chile, Panamá y Brasil. La producción de BLEE en estos países ha mostrado variaciones marcadas de un país a otro, con rangos entre un 5% a 73%. Las enzimas más comúnmente encontradas en nuestra región son SHV-2, SHV-4, SHV-5, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 y PER-2. No obstante, existen evidencias sobre la presencia de aislados de *E. coli* productoras de CTX-M-15 en esta parte del mundo<sup>61,62,67</sup>.

Con respecto a Venezuela, se conoce que se está realizando vigilancia de la resistencia bacteriana a los antibióticos desde el año 1987, cuando se creó el Programa Venezolano de Vigilancia de Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos. Desde entonces se ha podido observar un incremento marcado y constante de la resistencia de *E. coli* a los antibióticos de

uso común, entre los cuales se incluyen las cefalosporinas de tercera generación, con tasas encontradas de 29% para la ceftazidima y 39% para la cefotaxima para 1999 <sup>68</sup>. Para el 2006, se estudiaron 224 aislados de enterobacterias procedentes de ocho centros de salud de Caracas, donde el 91,1% de las cepas analizadas fueron productoras de BLEE <sup>69</sup>. De estas, el 72% resultó del grupo SHV y el 21% del grupo CTX-M. Este es el primer reporte conocido de la presencia de CTX-M en nuestro país <sup>68</sup>. En un estudio realizado en Maracaibo entre los años 2006 y 2007 se pudo encontrar una alta incidencia de BLEE en las especies de enterobacterias procedentes de pacientes hospitalizados en Terapia Intensiva <sup>51</sup>. Posteriormente, en un estudio realizado en el 2009 se logró determinar la presencia de las enzimas TEM-1, SHV-5-2a y CTX-M-2 en 25 cepas procedentes de pacientes con infección nosocomial en el estado Sucre <sup>70</sup>. Por otra parte, en el 2013 se describe por primera vez la presencia de ECUP nosocomial productora de CTXM-32 en Latinoamérica <sup>20</sup>. Recientemente en el año 2014, en Mérida se reporta la caracterización de cepas ECUP productoras de CTX-M-15 aisladas de pacientes con infección urinaria <sup>72,73</sup>.

### **Epidemiología molecular de las cepas productoras de BLEE.**

El estudio epidemiológico molecular de las enfermedades infecciosas tiene por objeto determinar la relación clonal que existe entre varios aislados de una misma especie. Esta información es muy útil, sobre todo cuando se producen brotes epidémicos causados por cepas multirresistentes, porque permite determinar el número de clones circulantes, identificar la fuente de contaminación o reservorio y los vehículos de transmisión, evaluar la eficacia de las medidas de control dirigidas a evitar la diseminación de clones y diferenciar entre infección y recidiva <sup>73</sup>.

Los métodos de tipificación se clasifican en dos grandes grupos: fenotípicos (basados en características fisiológicas o bioquímicas) y genotípicos (basados en el estudio del ADN). En la investigación de brotes de ITU, resulta difícil relacionar los aislados de origen humano y de ambiente por técnicas fenotípicas convencionales de tipificación, ya que estas son menos reproducibles y poseen menor poder de discriminación que los métodos genotípicos. Esto se debe a que la expresión de un carácter fenotípico es el resultado de la interacción del genotipo con el ambiente y, por tanto, es susceptible de modificarse cuando las condiciones ambientales varían <sup>73,74</sup>.

El extraordinario avance de la biología molecular en los últimos años ha permitido desarrollar nuevos métodos genotípicos de tipificación. Estos métodos se sustentan en el estudio del ADN cromosómico o extracromosómico. Utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (*del inglés: Polymerase Chain Reaction, PCR*) y sus variantes, se han diseñado varias técnicas de tipificación bacteriana <sup>75</sup>.

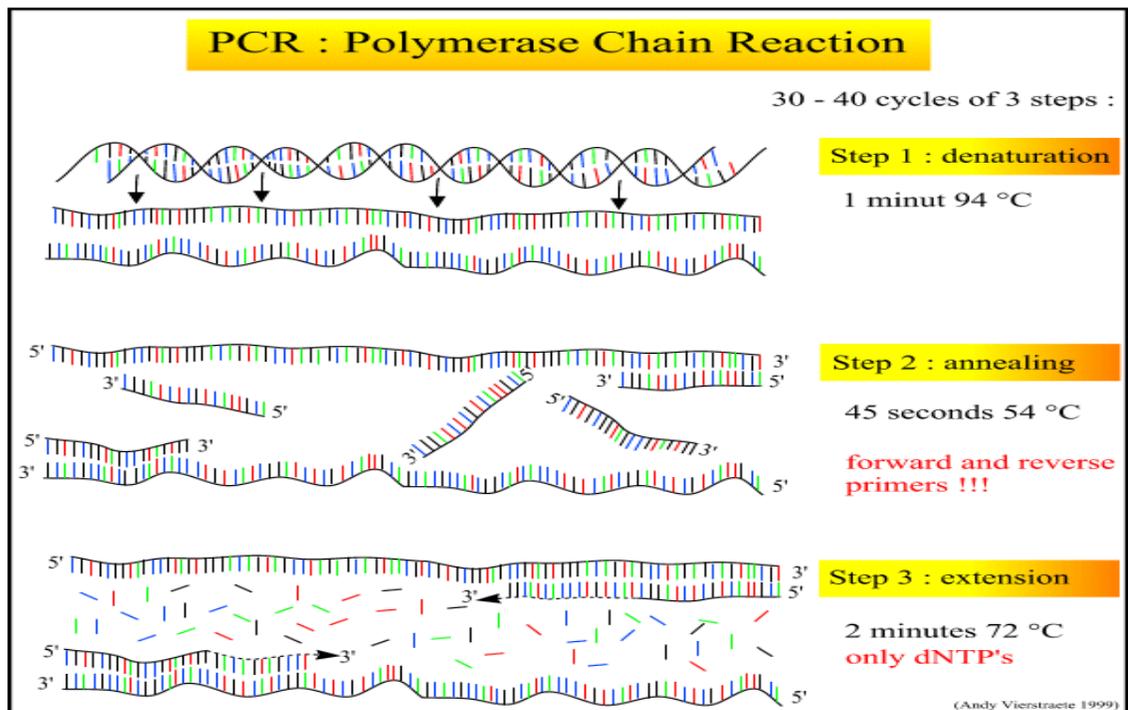
La reacción en cadena de la polimerasa (PCR,), se fundamenta en la amplificación de genes o secuencias de ADN polimórficas, a través de ciclos repetidos y duplicados llevados a cabo por una enzima, llamada ADN polimerasa y la subsiguiente separación electroforética de los productos de la amplificación (Fig. 4) <sup>73,76</sup>. Desde su aparición se ha aplicado en biología molecular, en la detección de patógenos en el hombre, animales, plantas y alimentos <sup>75,76</sup>.

Existen diversas variantes de la PCR como método de tipificación bacteriana dependiendo de ciertas modificaciones en el protocolo de trabajo: las técnicas de amplificación al azar de ADN polimórfico (RAPD), la amplificación de elementos repetitivos (REP-PCR) y el

análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP), las cuales han sido utilizadas ampliamente en estudios epidemiológicos <sup>76</sup>.

La electroforesis en gel de campo pulsante (del inglés *pulsed-field gel electrophoresis: PFGE*). La PFGE es la técnica estándar de referencia, para tipificar la mayoría de bacterias, hongos y parásitos con importancia clínica, debido a que posee un elevado poder de discriminación y una excelente reproducibilidad, aunque tiene el inconveniente de que es muy laboriosa y requiere de tiempo para la obtención de resultados, por lo que su uso diario en el laboratorio es poco práctico <sup>73</sup>.

En este contexto, resulta de gran importancia estudiar las estrategias adoptadas por los microorganismos en la adquisición y mantenimiento de los determinantes de patogenicidad y resistencia, así como las relaciones genéticas o clonales entre cepas aisladas en una población o área determinada mediante diversos métodos de tipificación <sup>76,77</sup>.



**Figura. 2** Etapas de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). **Fuente:** Vierstraete y

Col <sup>77</sup>.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

### **Tratamiento de la ITUAC causada por organismos productores de BLEE.**

Es evidente que cualquier infección del tracto urinario que origine síntomas debe ser tratada con el antibiótico más apropiado según el urocultivo. Parece aconsejable que cuando se decide tratar una infección urinaria se proceda también al cambio de la sonda vesical, pues los microorganismos que están adheridos a sus paredes pueden burlar la acción de los antibióticos y provocar nuevas infecciones <sup>5</sup>. La elección del antibiótico dependerá de criterios epidemiológicos y de la gravedad del paciente, así como de la posibilidad de disponer con rapidez de una prueba de susceptibilidad. Las fluoroquinolonas pueden ser una buena opción para iniciar un tratamiento empírico oral en las infecciones leves y moderadas, mientras se reciben los resultados del cultivo y del antibiograma. Si la infección

urinaria tiene criterios de mayor gravedad puede emplearse una cefalosporina de 3ª generación con actividad anti-*Pseudomonas* (ceftazidima) por vía parenteral o si se desea cubrir la posibilidad de un enterococo, puede administrarse una ampicilina asociada a un aminoglucósido (tobramicina). Esta conducta terapéutica podrá mantenerse o cambiarse al tener la disponibilidad de los resultados del cultivo y la prueba de susceptibilidad <sup>28</sup>.

Es importante destacar que la gran mayoría de las bacterias productoras de ITU producen BLEE, pero éstas pueden presentar susceptibilidad *in vitro* a algunas de las cefalosporinas <sup>61</sup>. El Comité de Estándares Clínicos y de Laboratorio (*del inglés Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI*) recomienda que las cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *P. mirabilis* productoras de BLEE deberían ser reportadas como resistente a penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos a pesar de los datos de susceptibilidad encontrados *in vitro*. De igual forma, este comité incluye la cefalosporina de cuarta generación cefepima que con frecuencia se muestra sensible frente a las bacterias productoras de BLEE <sup>78</sup>.

Un importante factor que limita el arsenal de antimicrobianos activos contra las enterobacterias productoras de BLEE es la frecuente co-expresión de resistencia de estos microorganismos a otras clases de antimicrobianos diferentes a los hidrolizados por las BLEEs. Este fenómeno ha sido demostrado para fluoroquinolonas, aminoglucósidos, las tetraciclinas y el trimetoprim/sulfametoxazol <sup>9, 16, 62, 67</sup>. La resistencia a los carbapenemos ha sido reportada en muy raras ocasiones, por tanto, este grupo de  $\beta$ -lactámicos representa la primera alternativa terapéutica en presencia ECUP productora de BLEE <sup>16, 61</sup>. Resulta razonable sugerir, el uso de ertapenem para infecciones adquiridas en la comunidad; mientras que meropenem, imipenem o doripenem para infecciones de origen nosocomial.

Los antimicrobianos como la fosfomicina y la nitrofurantoina, generalmente, muestran buena actividad contra las ECUP productoras de BLEE y representan una opción en caso de ITU no complicada producida por estos microorganismos <sup>14, 61</sup>. Entre otras opciones terapéuticas para el tratamiento de *E. coli* productora de BLEE se encuentran las polimixinas y la tigeciclina <sup>79</sup>.

Es necesario entender que las BLEEs representan una respuesta de los microorganismos a un ambiente hostil en presencia de la presión ejercida por los antibióticos, y en la actualidad se sabe que el factor más importante relacionado con el surgimiento de las BLEEs es el excesivo uso de cefalosporinas de tercera generación. A nivel de laboratorio existe un buen desarrollo de las técnicas de detección de estas enzimas, con la posibilidad de conocer de cerca los genes de resistencia. No obstante, el tratamiento de los gérmenes productores de BLEE es controvertido y su significancia clínica todavía no es clara. Sin embargo, parece existir un consenso para el control de las BLEE en los siguientes puntos: *A.* Restringir el uso de cefalosporinas de tercera generación; *B.* Los carbapenémicos representan la terapia de elección para el tratamiento de los gérmenes productores de BLEE; *C.* El uso combinado de  $\beta$ -lactámicos con inhibidor de  $\beta$ -lactamasas; *D.* El uso de la cefepima para los microorganismos productores de AmpC <sup>56</sup>. Además, es importante conocer las variaciones de los patrones de resistencia de patógenos productores d ITUAC para adoptar las pautas generales de tratamiento empírico de acuerdo al área geográfica en estudio <sup>80</sup>.

❖ **HIPÓTESIS**

La infección del tracto urinario (ITU) es una de las patologías más comunes que se asocia a los cuidados de la salud, especialmente en pacientes con catéteres vesicales (ITUAC). Miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son agentes causales de ITUAC en pacientes hospitalizados en el IAHULA y se caracterizan por la presencia de genes que median la resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, principalmente los que codifican para  $\beta$ -lactamasas de espectro extenso (*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> y *bla*<sub>CTX-M</sub>) y carbapenemasas (*bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>VIM</sub> y *bla*<sub>IMP</sub>).

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

❖ **OBJETIVOS GENERALES**

1. Determinar el perfil microbiológico de las ITUAC en pacientes hospitalizados en los servicios de Medicina Interna del Hospital Universitario de Los Andes.
2. Caracterizar microbiológica y genéticamente las cepas de enterobacterias resistentes a los  $\beta$ -lactámicos aisladas en pacientes con ITUAC.

❖ **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Identificar datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes incluidos en el estudio.
2. Identificar microbiológicamente los agentes productores ITUAC mediante el sistema VITEK 2.
3. Realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana a los agentes etiológicos aislados de pacientes con ITUAC.
4. Seleccionar las enterobacterias multirresistentes productoras de ITUAC.
5. Detectar fenotípicamente mecanismos de resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos en las bacterias Gram-negativas aisladas.
6. Detectar mediante amplificación por PCR los genes *bla<sub>BLEEs</sub>* y los codificantes para carbapenemasas en las cepas de enterobacterias.
7. Determinar las variantes de  $\beta$ -lactamasas por análisis de secuencias.
8. Establecer las relaciones genéticas entre las cepas enterobacterias mediante la tipificación por Rep-PCR.
9. Identificar clonas de enterobacterias de importancia epidemiológica circulantes en pacientes con ITUAC hospitalizados en las áreas de Medicina Interna del IAHULA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Población de estudio:** Se estudiaron pacientes con diagnóstico de ITUAC que estaban hospitalizados en los diferentes servicios de Medicina Interna del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA), durante enero a julio 2015.

### **Criterios de inclusión:**

1. Pacientes adultos (mayores de 15 años).
2. Pacientes de ambos géneros.
3. Pacientes con tiempo de hospitalización igual o mayor a 48 horas.
4. Pacientes con motivo de consulta y diagnóstico de hospitalización diferente a ITU.
5. Pacientes sin uroanálisis patológico al momento de su ingreso.
6. Pacientes con catéter vesical posicionado durante 24 horas o más.
7. Pacientes que se encontraban hospitalizados en las áreas de Medicina Interna del IAHULA.
8. Pacientes que desarrollen uronálisis patológico durante su estancia con presencia de catéter vesical.

Las características clínicas y epidemiológicas de cada paciente serán registradas en una planilla que será diseñada para tal fin (anexo 1).

### **Criterios de exclusión:**

1. Pacientes menores de 15 años.
2. Pacientes embarazadas
3. Pacientes sin catéter vesical o con catéter vesical durante menos de 24 horas
4. Pacientes con menos de 48 horas de admisión
5. Pacientes con uro análisis patológico al momento de su ingreso

6. Pacientes con diagnósticos de ingreso relacionados con ITU
7. Pacientes en otras áreas de hospitalización distintas a las pertenecientes al servicio de Medicina Interna.

Este estudio cumplió con todas las normas éticas internacionales expuestas en la declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité de bioética del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes, bajo el código de proyecto No. FA-572-14-07-EE.

**Recolección de la muestra:**

Previa asepsia y antisepsia de los genitales externos a todos los pacientes incluidos en éste estudio se les cambió la sonda vesical. Posteriormente, se recogió la muestra de orina en recolectores apropiados, los cuales fueron enviados de forma inmediata al Laboratorio de Microbiología, de lo contrario las muestras de orina se guardaron a temperatura de 8 °C durante un máximo de 15 minutos hasta su traslado al Laboratorio.

**Procesamiento microbiológico de las muestras de orina:** Inicialmente se realiza el estudio macro y microscópico (tinción de Gram) y mediante la técnica del asa calibrada se procedió a inocular placas con los medios de cultivo: Sangre, MacConkey y Manitol-Salado. Luego de una incubación a 36 °C por 24 horas se procedió a realizar el análisis cuantitativo determinando las unidades formadoras de colonias (UFC). El criterio que se usó para considerar ITU en pacientes cateterizados fue; 10.000 UFC. Todos los microorganismos aislados y causantes de ITU se identificaron mediante el sistema VITEK 2 technology (bioMérieux Inc.). Las pruebas de susceptibilidad se realizaron determinando la concentración inhibitoria mínima (CIM) utilizando las tarjetas VITEK 2 AST-N299,

AST-N298 y AST-YS07 para bacterias Gram-negativas, Gram-positivas y levaduras, respectivamente.

**Determinación fenotípica de BLEE y carbapenemasas:** La detección de BLEEs se realizó utilizando la prueba del sinergismo del doble disco (SDD) de acuerdo a lo descrito por el CLSI, 2015, que consiste en colocar un disco de amoxicilina/ácido clavulánico en el centro de una placa de Muller Hinton (MH) a distancia de 25 mm, entre centro y centro, de uno de ceftazidima y de otro de cefotaxima. El sinergismo observado dado por un aumento del halo de inhibición entre las cefalosporinas y el ácido clavulánico expresa la producción de BLEE. Los discos utilizados en esta prueba fueron: ceftazidima (BD BBL<sup>TH</sup>) (30 µg), amoxicilina/ácido clavulánico (OXOID) (75/10 µg) y cefotaxima (BD BBL<sup>TH</sup>) (30 µg). Para la detección fenotípica de BLEE se utilizó como cepa control *E. coli* ATCC 25922.

Inicialmente la detección fenotípica de carbapenemasas se realizó mediante el método modificado de Hodge descrito en CLSI (2015) y posteriormente, en los casos que resultaran positivos se determinó la presencia de las metalo-β-lactamasas utilizando discos de imipenem (10 µg), meropenem (10 µg) y ácido etilendiaminotetracético-mercaptoacético de sodio (EDTA-SMA) (Fluka). Los discos de EDTA-SMA fueron preparados impregnando discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro con 10 ml de una solución que contenía 4 volúmenes de EDTA (0,5 M) y 6 volúmenes de SMA (300 mg/ml), obteniéndose una concentración final en cada disco de aproximadamente 750 µg de EDTA y 2 mg de SMA. Una vez elaborados los discos, se dejaron secar a temperatura ambiente y fueron conservados a -20 °C. Placas de MH fueron inoculadas con suspensiones de las cepas ajustadas a una turbidez equivalente al 0,5 de McFarland. Luego, se colocó el disco de EDTA-SMA en el centro de la placa y a ambos lados, a una distancia de 15 mm, se

ubicaron los discos de imipenem y meropenem. Las placas fueron incubadas a 35 °C en aerobiosis durante 18-24 horas y posteriormente se procedió a la lectura e interpretación de la prueba. Se consideró la prueba positiva para la producción de una metalo  $\beta$ -lactamasa, cuando fue visible el incremento del halo de inhibición entre el  $\beta$ -lactámico (meropenem y/o imipenem) y el disco de EDTA-SMA. Como control de los discos de EDTA-SMA y de las pruebas de detección fenotípica de las metalo-enzimas, se utilizó la cepa *P. aeruginosa* 77297 productora de metalo  $\beta$ -lactamasas de tipo VIM.

Para la detección de la enzima *K. pneumoniae*-carbapenemasa (KPC) se procedió inoculando placas de MH de la misma manera que el caso anterior y se utilizaron discos de ácido borónico (BBL) y ertapenem colocados a una distancia de 15 mm de centro a centro. Un resultado positivo se determinó por un aumento del halo de inhibición entre los dos discos. Para esta prueba se utilizó como control positivo la cepa *K. oxytoca* LMM-SA26 (*bla<sub>KPC-2</sub>*)

**Caracterización molecular:** Para esta fase del estudio, solo se seleccionaron las cepas de *Enterobacteriaceae* aisladas a partir de los procedimientos anteriores.

**Preparación del ADN genómico:** La extracción del ADN total se realizó mezclando varias colonias provenientes de cultivos frescos en 200  $\mu$ L de agua destilada estéril. Estas suspensiones se congelaron a -20 °C durante 30 min y luego fueron sometidas a ebullición durante 15 min. Los residuos celulares se separaron por centrifugación (13.000 g durante 5 min a temperatura ambiente) y el ADN disuelto en el sobrenadante se recuperó en un tubo eppendorf estéril, el cual se almacenó a -20 °C hasta el momento de su uso.

**Determinación de genes codificantes para  $\beta$ -lactamasas:** La detección de los genes codificantes para TEM, SHV, CTX-M y las variantes CTX-M-1, -2, -8, -9 y -25 así como

carbapenemasas: KPC, IMP y VIM se realizó utilizando los iniciadores señalados en la tabla 4 y se utilizaron las condiciones de amplificación previamente descritos por Millán y col. (2013)<sup>81</sup>. Las amplificaciones se llevaron a cabo en un volumen final de 25 µL y la mezcla estuvo compuesta por 2,5 µL del buffer de reacción (10X), 1,25 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 Mm), 1,5 de dNTPs (10 mM; Bioneer), 2,5 µL de cada iniciador (10 pmol/µL), 0,3 µL de la *Taq* polimerasa (5 U/µL; Bionner), 12,45 µL de agua bidestilada ultrapura y 2 µL del ADN extraído.

**Secuenciación de los productos amplificados:** Los productos amplificados fueron inicialmente purificados utilizando el kit “Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System” (Promega) siguiendo el protocolo del proveedor. La determinación de la secuencia nucleotídica del ADN fue llevada a cabo por la firma *Macrogen Inc.* (Seoul, Corea). Los iniciadores utilizados para la secuenciación fueron los mismos empleados para la amplificación por PCR. El análisis de la secuencia nucleotídica obtenida se efectuó con el software *VectorNTI 10.0* (Informax, Bethesda, Md, USA) y los alineamientos de la secuencia se realizaron empleando la base de datos del programa BLAST 2.2.11 del National Center for Biotechnology Information (NCBI), disponible en la web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

**Tipificación de las cepas por REP-PCR:** La relación clonal entre las cepas de ECUP se determinó por la amplificación PCR de secuencias repetitivas (Rep-PCR) a partir del ADN total utilizando los iniciadores (tabla 4) y condiciones descritos por Lozano *et al.* (2002)<sup>82</sup>. La mezcla de reacción para la Rep-PCR se realizó en un volumen final de 25 µL y estuvo constituida por 2,5 µL de buffer (10X), 2,5 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 Mm), 3 µL de dNTPs (10 Mm), 3 µL de cada uno de los iniciadores (10 pmol/µL), 0,5 µL de *Taq* polimerasa

(5U/ $\mu$ L; Fundaim), 5,50  $\mu$ L de agua bidestilada estéril y 5  $\mu$ L de ADN. Los productos de amplificación se separaron en un gel de agarosa al 1,5% teñido con bromuro de etidio y fueron fotografiados con el UVP Biodoc-It System. Como marcador de peso molecular se utilizó una escalera de 50 pb (Bioneer). Los patrones obtenidos Rep-PCR fueron analizados utilizando el Software Treecon 1.3b, el cual generó un dendograma o árbol de similitud para establecer las relaciones entre las cepas estudiadas. Los patrones con coeficientes de similitud superior al 85% fueron considerados relacionados clonalmente.

**Electroforesis de los productos amplificados:** Todas las amplificaciones por PCR se realizaron en un termociclador Perkin Elmer (GeneAmp PCR System 2400) y los productos obtenidos fueron separados en geles de agarosa al 1% y 1,5%, teñidos con 0,5  $\mu$ g/mL de bromuro de etidio (Sigma) y fotografiados con el UVP Biodoc-It System. Como marcador de peso molecular se usó una escalera de 100 pb (Bioneer) para todas las amplificaciones, excepto en la tipificación por Rep-PCR en la que se utilizó una de 50 pb (Bioneer).

**Tabla 4.** Iniciadores que se utilizaron en este estudio.

Iniciador	Secuencia (5' - 3')	Referencia
<b>Fwbl<sub>ACTX-M</sub></b> <b>Frbl<sub>ACTX-M</sub></b>	ATG TGC AGY ACC AGT AAR GTK ATG GC CCG CTG CCG GTY TTA TCV CCB AC	Di Conza <i>et al.</i> , 2002
<b>Fwbl<sub>ACTX-M-1</sub></b> <b>Frbl<sub>ACTX-M-1</sub></b>	ATG GTT AAA AAA TCA CTG C GGT GAC GAT TTT AGC CGC	Di Conza <i>et al.</i> , 2002
<b>Fwbl<sub>ACTX-M-2</sub></b> <b>Frbl<sub>ACTX-M-2</sub></b>	TTA ATG ATG ACT CAG AGC ATT C GAT ACC TCG CTC CAT TTA TTG C	Eckert <i>et al.</i> , 2006
<b>Fwbl<sub>ACTX-M-8</sub></b> <b>Frbl<sub>ACTX-M-8</sub></b>	TGA ATA CTT CAG CCA CAC G TAG AAT TAA TAA CCG TCG GT	Ma <i>et al.</i> , 2005
<b>Fwbl<sub>ACTX-M-9</sub></b> <b>Frbl<sub>ACTX-M-9</sub></b>	AAC ACG GAT TGA CCG TCT TG TTA CAG CCC TTC GGC GAT	Ma <i>et al.</i> , 2005
<b>Fwbl<sub>ACTX-M-25</sub></b> <b>Frbl<sub>ACTX-M-25</sub></b>	CGC CGA TAA CAC GCA GAC CGG CTC CGA CTG GGT GAA GTA	Ma <i>et al.</i> , 2005
<b>Fwbl<sub>ASHV</sub></b> <b>Frbl<sub>ASHV</sub></b>	GGG TTA TTC TTA TTT GTC GC TTA GCG TTG CCA GTG CTC	Ma <i>et al.</i> , 2005
<b>Fwbl<sub>ATEM</sub></b> <b>Frbl<sub>ATEM</sub></b>	ATA AAA TTC TTG AAG ACG AAA GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC A	Ma <i>et al.</i> , 2005
<b>Fwbl<sub>IMP</sub></b> <b>Frbl<sub>IMP</sub></b>	CTA CCG CAG CAG AGT CTT TG AAC CAG TTT TGC CTT ACC AT	Senda <i>et al.</i> , 1996
<b>Fwbl<sub>AVIM</sub></b> <b>Frbl<sub>AVIM</sub></b>	AGT GGT GAG TAT CCG ACA G AGT GGT GAG TAT CCG ACA G	Tsakris <i>et al.</i> , 2000
<b>Fwbl<sub>KPC</sub></b> <b>Frbl<sub>KPC</sub></b>	GCT ACA CCT AGC TCC ACC TTC GAC AGTGGT TGG TAA TCC ATG C	Hong <i>et al.</i> , 2012
<b>Fw<sub>REP</sub></b> <b>Fr<sub>REP</sub></b>	IIIG CGC CGI CAT CAG GC ACG TCT TAT CAG GCC TAC	Lozano <i>et al.</i> 2002 <sup>82</sup>

❖ RESULTADOS

En este estudio se analizaron un total de 73 muestras de orina provenientes de pacientes con infección del trato urinario asociado a catéter (ITUAC), los cuales se distribuyeron según el género en 53,3% masculinos y 46,7% femeninos, con un promedio de edad de 50,6 años y un rango entre 16 y 96 años. Sin embargo, el grupo etario que acumuló el mayor número de pacientes fue el comprendido entre 31 a 35 años, representando 16,4% (10/73) de los casos estudiados y en donde se observó una mayor frecuencia de pacientes masculinos 13,7% (10/39) (Tabla 5). Sin embargo al considerar la población mayor de 60 años como un grupo etario independiente éste agrupa una frecuencia de 39,8% con predominio en el género femenino.

**Tabla 5.** Distribución de los pacientes de acuerdo al grupo etario y género.

Grupo etario	Masculino		Femenino		Total	
	n° 39 (53,3%)		n° 34 (46,7%)		N° 73 (100%)	
	n°	%	n°	%	N°	%
15 a 20	3	4,1%	4	5,5%	7	9,6%
21 a 25	3	4,1%	1	1,4%	4	5,5%
26 a 30	0	0%	2	2,7%	2	2,7%
<b>31 a 35</b>	<b>10</b>	<b>13,7%</b>	<b>2</b>	<b>2,7%</b>	<b>12</b>	<b>16,4%</b>
36 a 40	3	4,1%	2	2,7%	5	6,8%
41 a 45	2	2,7%	2	2,7%	4	5,5%
46 a 50	2	2,7%	0	0%	2	2,7%
51 a 55	1	1,4%	1	1,4%	2	2,7%
56 a 60	2	2,7%	4	5,5%	6	8,3%
61 a 65	7	9,6%	0	0%	7	9,6%
66 a 70	2	2,7%	5	6,8%	7	9,6%
71 a 75	2	2,7%	5	6,8%	7	9,6%
76 a 80	1	1,4%	1	1,4%	2	2,7%
81 a 85	1	1,4%	2	2,7%	3	4,2%
86 a 90	0	0%	1	1,4%	1	1,4%
Mayor o igual a 91	0	0%	2	2,7%	2	2,7%
	39	53,4%	34	46,6%	73	100%

**Tabla 6.** Distribución de los pacientes con ITUAC de acuerdo al diagnóstico principal de hospitalización y género.

Diagnóstico de ingreso	Femenino		Masculino		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
Patología Traumática aguda	6	8,2%	17	23,3%	23	31,5%
ACV isquémico/hemorrágico	4	5,5%	8	11%	12	16,5%
Infecciones severas sepsis/shock séptico	9	12,4%	2	2,7%	11	15,1%
Abdomen agudo médico/quirúrgico	6	8,2%	4	5,5%	10	13,7%
Patología coronaria aguda	3	4,1%	1	1,4%	4	5,5%
Complicación agudas de Diabetes Mellitus (cetoacidosis/estado hiperomolar)	3	4,1%	1	1,4%	4	5,5%
Urgencias neurológicas no vasculares	2	2,7%	2	2,7%	4	5,4%
Patología prostática no neoplásica	0	0%	2	2,7%	2	2,7%
Otros	1	1,4%	2	2,7%	3	4,1%
	34	46,6%	39	53,4%	73	100

\*Patología traumática aguda incluyó: pacientes politraumatizados, traumas craneo-encefálicos, traumas raquimedulares, traumas torácicos complicados.\* Urgencias neurológicas no vasculares incluyó: miastenia gravis, encefalopatías metabólicas y estatus convulsivos.\* Patología coronaria aguda incluyó infartos de miocardio y trastornos del ritmo cardiaco con compromiso hemodinámico.\* Abdomen agudo médico/quirúrgico incluyó pancreatitis agudas, disentería, colangitis, abdómenes quirúrgicos infecciosos, perforantes.\*Otros incluyó: Insuficiencia renal aguda post-renal y trombo embolismo pulmonar.

Todos los pacientes incluidos en este estudio fueron hospitalizados inicialmente por patologías no relacionadas con infecciones del tracto urinario. De manera que, se agrupan en 8 diagnósticos principales de admisión que fueron registrados en la Tabla 6. En los pacientes masculinos prevalecieron patologías relacionadas con hechos violentos como trauma craneoencefálico y politraumatizados junto con enfermedades de tipo cardiovascular, manifestada como accidente cerebro vascular (ACV) isquémico o hemorrágico, mientras que patologías de tipo infecciosa y metabólica fueron las más frecuentes en el grupo de pacientes femeninos.

La distribución de los pacientes de acuerdo al área de hospitalización se muestra en la Tabla 7. El 86,3% de los pacientes se ubicaron en las dependencias pertenecientes a la emergencia de adultos, siendo trauma shock el área donde se concentró el mayor número de casos estudiados (61,6%; 45/73). El resto de los pacientes fueron distribuidos en orden de frecuencia en el área de observación de la emergencia de adultos (23,3%; 17/73), hospitalización de adultos T5 y T4 (9,6%; 7/73 y 2,7%; 2/73) y finalmente dos pacientes con 1,4% c/u en las áreas de estabilización y T6.

**Tabla 7.** Distribución de los pacientes de acuerdo al área de hospitalización.

Área (Medicina Interna)	Femenino		Masculino		Total	
	n°	%	n°	%	N°	%
Emergencia de Adultos						
<b>Estabilización</b>	0	0%	1	1,4%	1	1,4%
<b>Trauma Shock</b>	21	28,8%	24	32,9%	45	61,6%
<b>Observación</b>	7	9,6%	10	13,6%	17	23,3%
<b>Sud-total</b>	<b>28</b>	<b>38,4%</b>	<b>35</b>	<b>47,9%</b>	<b>63</b>	<b>86,3%</b>
Hospitalización Adultos						
<b>T4</b>	0	0%	2	2,7%	2	2,7%
<b>T5</b>	5	6,8%	2	2,7%	7	9,6%
<b>T6</b>	1	1,4%	0	0%	1	1,4%
<b>Sud-total</b>	<b>6</b>	<b>8,3%</b>	<b>4</b>	<b>5,5%</b>	<b>10</b>	<b>13,7%</b>
<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>46,6%</b>	<b>39</b>	<b>53,4%</b>	<b>73</b>	<b>100%</b>

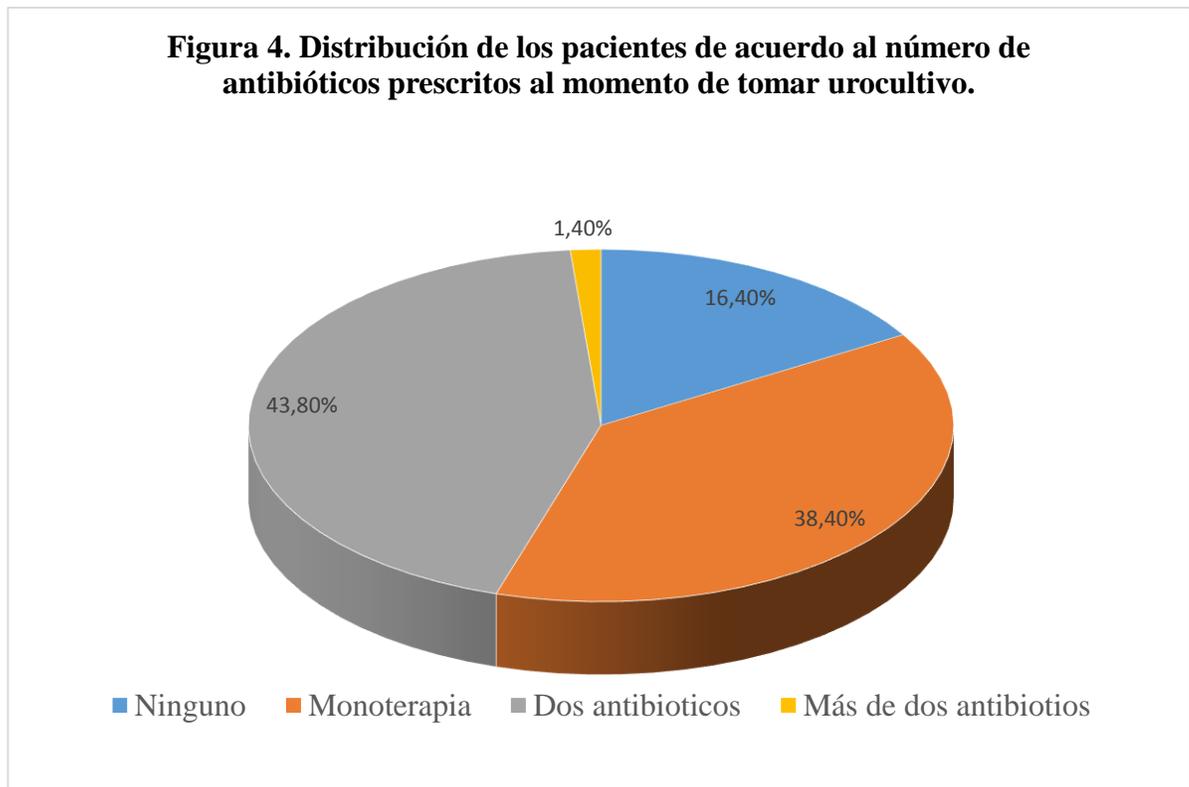
El rango de días de permanencia del catéter en los pacientes estudiados se observó entre los 2 a los 30 días, con un promedio de 10,9 días. El 49,3% de los pacientes registraron una permanencia del catéter entre 6 y 12 días, predominando en este grupo los de sexo

masculino, mientras que cateterizaciones menores de 5 días fueron más frecuente en el sexo femenino 15,1% (Tabla 8).

**Tabla 8.** Distribución de los pacientes con ITUAC de acuerdo a los días de permanencia del catéter.

Permanencia (días)	Femenino		Masculino		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
≤ 5 días	11	15,1%	4	5,4%	15	20,5%
6 a 12 Días	12	16,4%	24	32,9%	36	49,3%
12 a 19 días	6	8,2%	8	11%	14	19,2%
20 a 26 días	4	5,5%	2	2,7%	6	8,2%
≥ 27 días	1	1,4%	1	1,4%	2	2,8%
	34	<b>46,6%</b>	39	<b>53,4%</b>	73	100%

El 83,6% de los pacientes estudiados tenían antecedentes de estar siendo tratados con antimicrobianos, de manera que para el momento de la tomar la muestra 38,4% estaba recibiendo un antibiótico, 43,8% una combinación de dos y el 1,4 % más de dos antimicrobianos (Fig. 4). La monoterapia estuvo representada por ampicilina/sulbactam seguida por ceftriaxona. Las combinaciones más frecuentes fueron: ceftriaxona + levofloxacino, meropenem + metronidazol e imipenem + metronidazol y la triple terapia se observó con el uso combinado de imipenem + clindamicina + fluconazol (datos no mostrados).



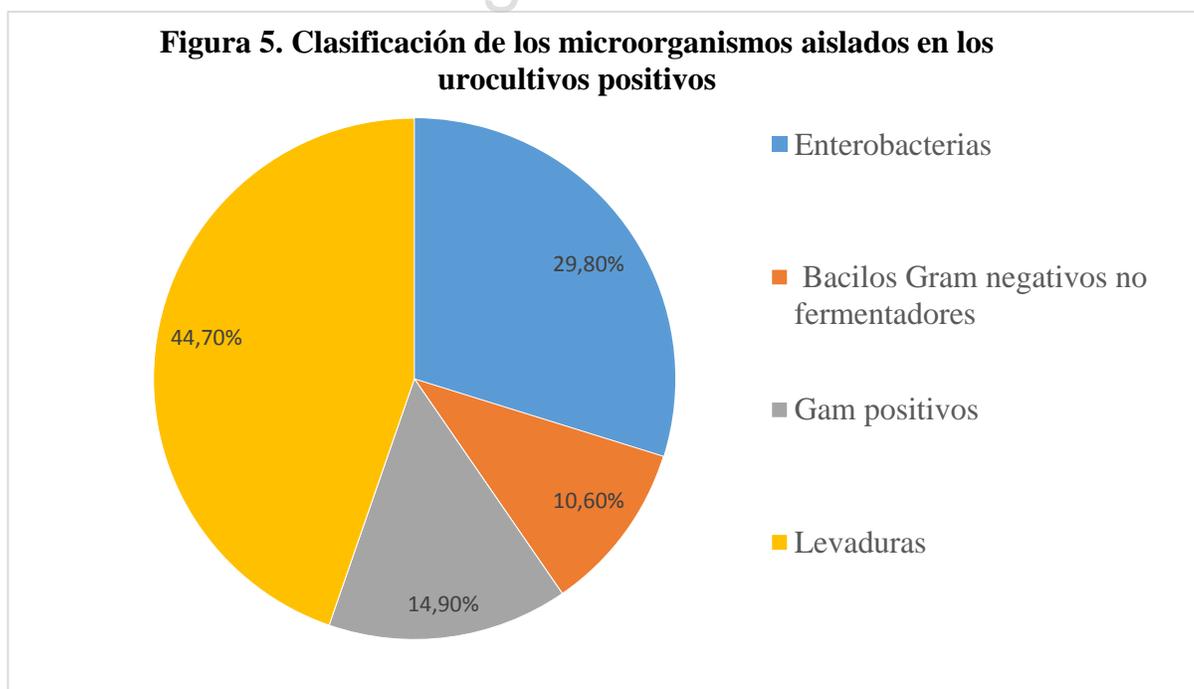
**Figura 3.** Distribución de los pacientes de acuerdo al número de antibióticos prescritos al momento de tomar urocultivo.

El 52,1% de las muestras recolectadas fueron consideradas positivas. El aislamiento de un solo microorganismo (42,5%) fue la característica más frecuente en los urocultivos positivos (Tabla 9). Las levaduras fueron el agente etiológico más frecuentemente aislado en las ITUAC (44,7%), siguiendo la aparición de las enterobacterias de un 29,8%, luego las bacterias Gram positivas 14,9 % y de último se aislaron los bacilos Gram negativos no fermentadores con 10,6 % (Fig. 5).

**Tabla 9.** Distribución de los pacientes de acuerdo al n° de microorganismos reportados en el urocultivo y frecuencia según género.

N° microorganismos	Femenino		Masculino		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
Ninguno	17	23,3%	18	24,7%	35	47,9%
Un microorganismo	13	17,8%	18	24,7%	31	42,5%
Dos microorganismos	3	4,1%	3	4,1%	6	8,2%
Tres microorganismos	0	0%	1	1,3%	1	1,4%
	33	45,2%	40	54,8%	73	100%

www.bdigital.ula.ve



**Figura 4.** Clasificación de los microorganismos aislados en los urocultivos positivos.

Con base en el perfil microbiológico de las ITUAC en cultivos monomicrobianos, *Candida tropicalis* fue el patógeno más frecuentemente aislado (17,4%), en segundo lugar *C. albicans* (13,4%) y *E. coli* ocupó el tercer lugar (10,8%). En los todos los cultivos mixtos se observó la presencia de levaduras y en el único urocultivo polimicrobiano (2,7%) se aislaron 3 bacterias Gram negativas (*P. aeruginosa* + *E-coli* + *K. pneumoniae*) (Tabla 11).

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

**Tabla 11.** Diagnóstico microbiológico y distribución de acuerdo a patrones de asociación microbiana.

Microorganismos /Asociaciones	Nº
Cultivos monomicrobianos	
<i>Escherichia coli</i>	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4
Complejo <i>Enterobacter cloacae</i>	1
Complejo <i>Acinetobacter baumannii</i>	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	3
<i>Enterococcus faecium</i>	1
<i>Candida tropicalis</i>	8
<i>Candida albicans</i>	6
<i>Candida famata</i>	1
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1
Cultivos mixtos	
<i>Candida tropicalis</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
<i>Candida parapsilosis</i> + <i>Enterococcus faecium</i>	1
<i>Candida albicans</i> + <i>Escherichia coli</i>	1
<i>Candida glabrata</i> + <i>Escherichia coli</i>	1
<i>Candida glabrata</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
Cultivos polimicrobianos	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> + <i>Escherichia coli</i> + <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1

Las pruebas de susceptibilidad permitieron evidenciar que la mayoría de las cepas de enterobacterias presentaron resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro y a la combinación  $\beta$ -lactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas. Este perfil de resistencia fue compatible con la detección fenotípica de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) (Fig. 6). Por otra parte, 5 de las 8 cepas de *E. coli* y 3 de las 5 *K. pneumoniae* fueron resistentes a todos los carbapenemos probados, mientras que *E. cloacae* permaneció susceptible a este grupo de antibióticos. Se confirmó la presencia de carbapenemasas de tipo KPC en tres cepas de *E. coli* y en una *K. pneumoniae* y metalo- $\beta$ -lactamasas en 2 de *E. coli* y 2 de *K. pneumoniae* (Fig. 6). Los aminoglucósidos tuvieron actividad sobre *E. coli* en más de la mitad de las cepas aisladas, 2 cepas de *K. pneumoniae* y *E. cloacae* solo fue resistente a la amikacina. Cuatro *E. coli*, 3 *K. pneumoniae* y la única cepa de *E. cloacae* fueron resistentes a las quinolonas. Todas las cepas fueron sensibles a tigeciclina y colistina (Tabla 12).

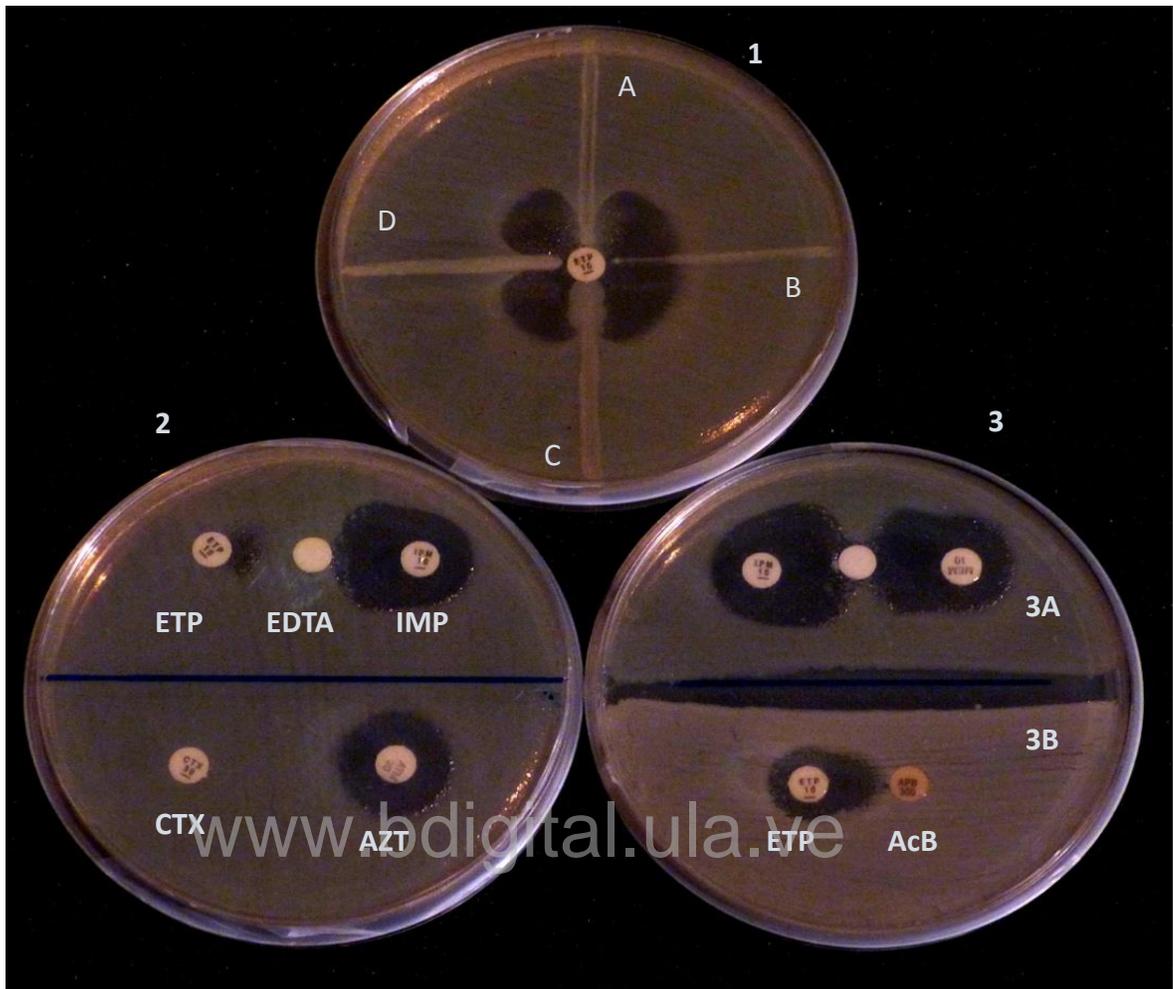
**Tabla 12.** Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de enterobacterias aisladas de pacientes con ITUAC.

Antibiótico	Rango CIM (µg/mL)	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>E. cloacae</i> complejo	
		nº 8	nº 8	nº 5	nº 5	nº1	nº1
		S	R	S	R	S	R
<b>Ampicilina/sulb</b>	≤8/4 - ≥32/16	2	6	0	5	0	1
<b>Piperacilina/Taz</b>	≤16/4 - ≥128/4	2	6	0	5	1	0
<b>Cefoxitina</b>	≤8 - ≥32	3	5	0	5	NA	NA
<b>Ceftazidima</b>	≤4 - ≥16	2	6	0	5	0	1
<b>Cefotaxima</b>	≤1 - ≥4	2	6	0	5	0	1
<b>Cefepima</b>	≤2 - ≥16	2	6	0	5	1	0
<b>Aztreonam</b>	≤4 - ≥16	2	6	0	5	0	1
<b>Ertapenem</b>	≤0,5 - ≥32	3	5	2	3	1	0
<b>Imipenem</b>	≤1 - ≥4	3	5	2	3	1	0
<b>Meropenem</b>	≤1 - ≥4	3	5	2	3	1	0
<b>Amikacina</b>	≤16 - ≥64	5	3	2	3	0	1
<b>Gentamicina</b>	≤4 - ≥16	5	3	2	3	1	0
<b>Ácido nalidíxico</b>	≤16 - ≥32	4	4	2	3	0	1
<b>Ciprofloxacino</b>	≤0.06- ≥1	4	4	2	3	0	1
<b>Tigeciclina</b>	≤0,1 - ≥16	8	0	5	0	1	0
<b>Colistina</b>	≤0,5 - ≥64	8	0	5	0	1	0

Ampicilina/sulb: ampicilina/sulbactam; Piperacilina/Taz: piperacilina/tazobactam; CIM: concentración inhibitoria mínima; S: sensible; R: resistente; NA: no aplicable.



**Figura 5.** Prueba del sinergismo de doble disco para la determinación fenotípica de  $\beta$ -lactamasa de espectro extenso (BLEE). Cepas representativas de enterobacterias productoras de BLEE. 1: *E. cloacae*; 2A: *E. coli* 1; 2B: *E. coli* 4; 3A: *K. pneumoniae* 2; 3B: *K. pneumoniae* 5.



**Figura 6.** Pruebas fenotípicas de cepas productoras de carbapenemasas. Placa 1: Prueba de Hodge para la detección de carbapenemasas 1A: control positivo; 1B: control negativo. 1C y 1D: cepas positivas (producción de carbapenemasas), Placa 2: Cepa productora de metalo-betalactamasa. Placa 3: 3A cepa productora de metalo-bectalactamasa. 3B cepa productora de KPC. ETP: ertapenem; IMP: imipenem; CTX: cefotaxima; AZT: aztreonam; AcB: Ácido borónico.

En la tabla 13 se muestra la susceptibilidad antimicrobiana de los bacilos Gram-negativos no fermentadores. Dos de las tres cepas de *P. aeruginosa* presentaron resistencia a 9 de los 15 antibióticos probados. La resistencia incluyó cefalosporinas de 3era y 4ta. Generación, carbapenemos, quinolonas y trimetoprim/sulfametoxazol. La resistencia de *A. baumannii* abarcó el 90% de los antibióticos ensayados y *St. maltophilia* no mostró sensibilidad a las quinolonas. *P. aeruginosa* y *A. baumannii* permanecieron susceptibles a tigeciclina y colistina.

**Tabla 13.** Susceptibilidad antimicrobiana de bacilos Gram-negativos no fermentadores aislados de pacientes con infección del tracto urinario asociado a catéter.

Antibiótico	Rango CIM (µg/mL)	<i>P. aeruginosa</i> (n° 3)		<i>A. baumannii</i> complejo (n° 1)		<i>St. Maltophilia</i> (n° 1)	
		S	R	S	R	S	R
Piperacilina/Taz	≤16/4 - ≥128/4	1	2	0	1	NA	NA
Ceftazidima	≤4 - ≥16	2	1	0	1	NA	NA
Cefotaxima	≤1 - ≥4	1	2	0	1	NA	NA
Cefepima	≤2 - ≥16	1	2	0	1	NA	NA
Aztreonam	≤4 - ≥16	NA	NA	0	1	NA	NA
Ertapenem	≤2 - ≥8	1	2	0	1	NA	NA
Imipenem	≤2 - ≥8	1	2	0	1	NA	NA
Meropenem	≤2 - ≥8	1	2	0	1	NA	NA
Amikacina	≤16 - ≥64	2	1	1	0	NA	NA
Gentamicina	≤4 - ≥16	2	1	0	1	NA	NA
Ciprofloxacino	≤0.06- ≥1	1	2	0	1	0	1
Levofloxacino	≤2 - ≥8	1	2	0	1	0	1
Tigeciclina	≤0,12 - ≥32	3	0	1	0	NA	NA
Colistina	≤0,25 - ≥64	3	0	1	0	NA	NA
Trimetoprim/sul	≤2/38 - ≥4/76	1	2	0	1	0	1

Piperacilina/Taz: piperacilina/tazobactam; Trimetoprim/sul: trimetoprim/sulfametoxazole; CIM: concentración inhibitoria mínima; S: sensible; R: resistente; NA: no aplicable.

La susceptibilidad antimicrobiana de las bacterias Gram-positivas se muestran en la tabla 14. Todas las cepas de *E. faecalis* fueron resistentes a ampicilina, macrólidos y linezolid, pero fueron sensibles a aminoglucósidos, glucopéptidos, tetraciclinas y quinolonas. *E. faecium* a diferencia de *E. faecalis* mostró sensibilidad a la estreptomicina, linezolid y una sola cepa fue resistente al quinupristina/dalfopristina. *S. aureus* fue sensible a todos los antibióticos probados, mientras que *S. epidermidis* demostró baja susceptibilidad a los  $\beta$ -lactámicos, macrólidos y gentamicina.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

**Tabla 14.** Susceptibilidad antimicrobiana de bacterias Gram positivas aisladas de pacientes con infección del tracto urinario asociado a catéter.

Antibiótico	Rango CIM (µg/mL)	<i>Enterococcus</i>				<i>Staphylococcus</i>			
		<i>E. faecalis</i>		<i>E. faecium</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>	
		n° 3		n° 2		n° 1		n° 1	
		S	R	S	R	S	R	S	R
Ampicilina	≤8 - ≥16	0	3	0	2	NA	NA	NA	NA
Oxacilina	≤2 - ≥4	NA	NA	NA	NA	1	0	0	1
Eritromicina	≤0.5 - ≥8	0	3	0	2	1	0	0	1
Clindamicina	≤0.5 - ≥8	0	3	0	2	1	0	0	1
Gentamicina	≤84 - ≥16	NA	NA	NA	NA	1	0	0	1
Gentamicina*	≤ 120	3	0	0	2	NA	NA	NA	NA
Estreptomina*	≤ 300	3	0	2	0	NA	NA	NA	NA
Quinupristina/dalfop	≤1 - ≥4	3	0	1	1	1	0	1	0
Linezolid	≤2 - ≥8	0	3	2	0	1	0	1	0
Daptomicina	≤1	NA	NA	NA	NA	1	0	1	0
Teicoplanina	≤8 - ≥32	3	0	2	0	1	0	1	0
Vancomicina	≤2 - ≥32	3	0	2	0	1	0	1	0
Minociclina	≤4 - ≥16	3	0	2	0	1	0	1	0
Tetraciclina	≤4 - ≥16	3	0	2	0	1	0	1	0
Tigeciclina	≤2 - ≥8	NA	NA	NA	NA	1	0	1	0
Ciprofloxacino	≤1 - ≥4	3	0	0	2	1	0	0	1
Levofloxacino	≤1 - ≥8	3	0	0	2	1	0	0	1
Maxifloxacino	≤0,5 - ≥2	3	0	0	2	1	0	0	1
Rifampicina	≤1 - ≥4	NA	NA	NA	NA	1	0	1	0
Nitrofurantoina	≤32 - ≥128	3	0	0	2	1	0	1	0
Trimetoprim/sul	≤2 /38- ≥4/76	NA	NA	NA	NA	1	0	1	0

\*Alta concentración; Quinupristina/dalfop: quinupristin/dalfopristina; Trimetoprim/sul: trimetoprim/sulfametoxazol; CIM: concentración inhibitoria mínima; S: sensible; R: resistente; NA: no aplicable.

En relación a la susceptibilidad de las levaduras, todas fueron sensibles a los 6 antifúngicos probados, solo una cepa de *C. tropicalis* mostró resistencia a flucitosina (Tabla 14).

**Tabla 15.** Susceptibilidad antifungica de *Candida* spp. y *Critococcus laurentis* aisladas de pacientes con ITUAC.

Antifúngico	Rango CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )	<i>C. tropicalis</i> n° 9		<i>C. albicans</i> n° 7		<i>C. parasilopsis</i> n° 1		<i>C. glabrata</i> n° 1		<i>C. famata</i> n° 1		<i>Cr. Laurentis</i> n° 1	
		S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
Flucitosina	$\leq 1 - \geq 64$	8	1	7	0	1	0	1	0	1	0	1	0
Fluconazol	$\leq 1 - \geq 64$	9	0	7	0	1	0	1	0	1	0	1	0
Voriconazol	$\leq 0,12 - \geq 8$	9	0	7	0	1	0	1	0	1	0	1	0
Anfotericina B	$\leq 0,25 - \geq 16$	9	0	7	0	1	0	1	0	1	0	1	0
Caspofungina	$\leq 0,25 - \geq 4$	9	0	7	0	1	0	1	0	1	0	1	0
Micafungina	$\leq 0,06 - \geq 4$	9	0	7	0	1	0	1	0	1	0	1	0

CIM: concentración inhibitoria mínima; S: sensible; R: resistente

En la tabla 16, se resumen las características fenotípicas de 12 cepas de enterobacterias que fueron seleccionadas para el análisis genético de los mecanismos de resistencia a los  $\beta$ -lactámicos. Todas las cepas fueron productoras de BLEE (sinergismo del doble disco positiva) y 8 co-produjeron carbapenemasas, de estas 4 fueron positivas para KPC (inhibición positiva con ácido borónico) y las otras 4 restantes se les detecto metalo- $\beta$ -latamasas (inhibición positiva EDTA/SMA).

**Tabla 16.** Características fenotípicas de las cepas de enterobacterias resistentes a  $\beta$ -lactámicos.

Enterobacteria		Perfil de resistencia	Detección fenotípica de $\beta$ -lactamasas		
Nº	Código de cepa		SDD	Inhibición Ac. borónico	EDTA/SMA
<i>E. coli</i>					
1	LMM-15131.1	BLEE, Ert, Imp, Mer, Amk, Gtm, Acn, Cip.	+	+	-
2	LMM-15131.2	BLEE Ert, Imp, Mer, Amk, Gtm, Acn, Cip.	+	+	-
3	LMM-1147	BLEE, Ert, Imp, Mer, Amk, Gtm, Acn, Cip.	+	-	+
4	LMM-1194.3	BLEE, Ert, Imp, Mer, Amk, Gtm, Acn, Cip.	+	+	-
5	LMM-1195	BLEE, Ert, Imp, Mer, Amk, Gtm, Acn, Cip.	+	-	+
6	LMM-1199	BLEE, Gtm, Acn, Cip.	+	-	-
<i>K. pneumoniae</i>					
7	LMM-141060	BLEE, Ert, Imp, Mer, Gtm, Acn, Cip.	+	-	+
8	LMM-1194.2	BLEE, Amk, Gtm, Acn, Cip.	+	-	-
9	LMM-14195	BLEE, Ert, Imp, Mer, Gtm, Acn, Cip.	+	-	+
10	LMM-524.1	BLEE, Amk, Gtm, Acn, Cip.	+	-	-
11	LMM-14524.2	BLEE, Ert, Imp, Mer, Gtm, Acn, Cip.	+	+	-
<i>E. cloacae</i> *					
12	LMM-1064	BLEE, Amk, Acn.	+	-	-

\*complejo *E. cloacae*; Ac. borónico: Ácido borónico; SMA: ácido dipiconílico; BLEE:  $\beta$ -lactamasa de espectro extenso; Ert: ertapenem; Imp: imipenem; Mer: meropenem; Amk: amikacina; Gtm: gentamicina; Acn: Ácido nalidíxico; Cip: ciprofloxacina.

La determinación de las características genéticas de las cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas se muestra en la Tabla 17. Todas las cepas presentaron dos o más genes codificantes para  $\beta$ -lactamasas. Los genes *bla*<sub>TEM-1</sub> y *bla*<sub>CTX-M-15</sub> fueron los más frecuentes, mientras que *bla*<sub>CTX-M-8</sub> fue detectado en 5 de las 6 *E. coli* y en la única cepa de *E. cloacae*. Los genes *bla*<sub>CTX-M-14</sub> y *bla*<sub>CTX-M-2</sub> estuvieron presentes en una cepa de *E. coli* y *K. pneumoniae*, respectivamente. La detección de carbapenemasas fue observada con mayor frecuencia en cepas de *E. coli*, predominando *bla*<sub>KPC-2</sub>, mientras que *bla*<sub>VIM-2</sub> fue detectada en 2 cepas de *K. pneumoniae*. *Enterobacter cloacae* no fue portador de genes para carbapenemasas.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

**Tabla 17.** Características genotípicas de las cepas de enterobacterias resistentes a  $\beta$ -lactámicos.

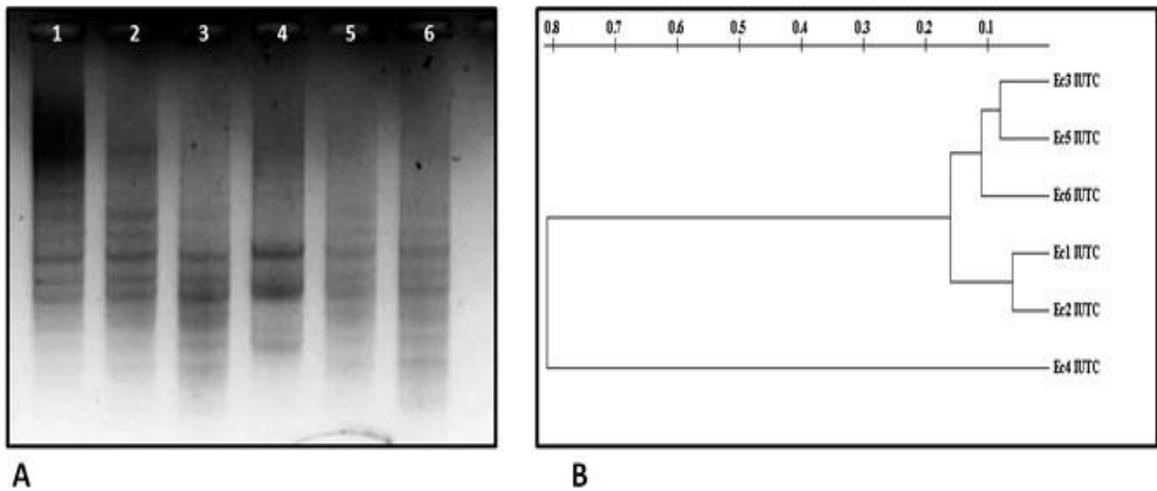
Nº	Código de cepa	Genes <i>bla</i> <sub>BLEEs</sub>	Genes carbapenemasas
<b><i>E. coli</i></b>			
1	LMM-15131.1	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-2</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub>	<i>bla</i> <sub>KPC-2</sub>
2	LMM-15131.2	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-2</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub>	<i>bla</i> <sub>KPC-2</sub>
3	LMM-1147	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-5</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub>	<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>
4	LMM-1194.3	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-2</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-14</sub>	<i>bla</i> <sub>KPC-2</sub>
5	LMM-1195	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-5</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub>	<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>
6	LMM-1199	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub>	-
<b><i>K. pneumoniae</i></b>			
7	LMM-141060	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub>	<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>
8	LMM-1194.2	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub>	-
9	LMM-14195	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub>	<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>
10	LMM-524.1	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-2</sub>	-
11	LMM-14524.2	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub>	<i>bla</i> <sub>KPC-2</sub>
<b><i>E. cloacae</i>*</b>			
12	LMM-1064	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-12</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub>	-

La distribución clonal por Rep-PCR de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* y su perfil genético para la producción de  $\beta$ -lactamasas se muestran en la tabla 18. Las cepas de *E. coli* se distribuyeron en dos principales grupos clonales. El grupo clonal A agrupó la mayoría de las cepas (5/6). Esta clona se subdividió en A1 con 3 cepas con una relación de 90% y el A2 integrado por 2 *E. coli* con aproximadamente 95% de similitud. La cepa LMM-1194.3 constituyó un grupo clonal (B) con menos del 20% de relación con los grupos A1 y A2 (Fig 8). En relación con *K. pneumoniae*, se pudo observar 2 grupos clonales bien definidos (I y II). Cada uno de estos grupos clonales estuvo constituido por cepas con 100% de similitud (Figura 9). El perfil de  $\beta$ -

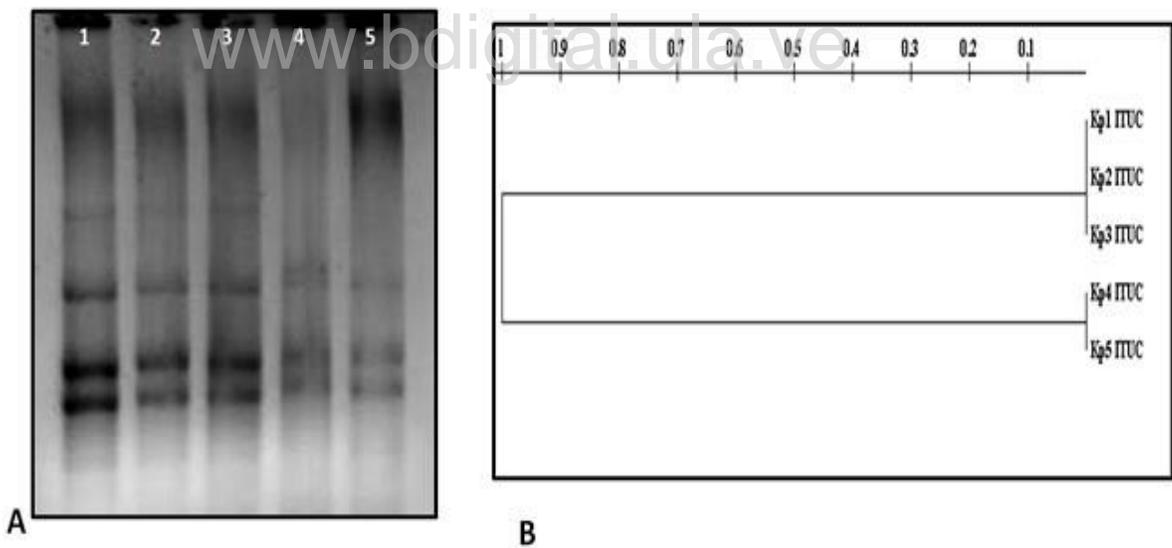
lactamasas fue una característica independiente de los grupos clonales en ambos géneros bacterianos.

**Tabla 18.** Tipificación por Rep-PCR y distribución clonal de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* y perfil genético para la producción de  $\beta$ -lactamasas.

Nº	Código de cepa	Perfil de $\beta$ -lactamasas	Rep-PCR
<i>E. coli</i>			
1	LMM-15131.1	TEM-1+SHV-2+CTXM-15+CTXM-8+KPC-2	A2
2	LMM-15131.2	TEM-1+SHV-2+CTXM-15+CTXM-8+KPC-2	A2
3	LMM-1147	TEM-1+SHV-5+CTXM-15+VIM-2	A1
4	LMM-1194.3	TEM-1+SHV-2+CTXM-15+CTXM-8+ CTXM-14+KPC-2	B
5	LMM-1195	TEM-1+SHV-5+CTXM-15+CTXM-8+VIM-2	A1
6	LMM-1199	TEM-1+CTXM-1+CTXM-8	A1
<i>K. pneumoniae</i>			
1	LMM-141060	TEM-1+CTXM-15+VIM-2	IA
2	LMM-1194.2	TEM-1+CTXM-15	IA
3	LMM-14195	TEM-1+CTXM-15+VIM-2	IA
4	LMM-524.1	TEM-1+CTXM-15+CTXM-2	IIA
5	LMM-14524.2	TEM-1+CTXM-15+KPC-2	IIA



**Figura 7.** Electroforesis del Rep-PCR (A) y dendrograma que muestra la relación clonal de las cepas de *E. coli* aisladas de ITUAC (B). Cada grado en la escala representa un 10% de diferencia en el índice de similitud.



**Figura 8.** Electroforesis del Rep-PCR (A) y dendrograma que muestra la relación clonal de las cepas de *K. pneumoniae* aisladas de ITUAC (B). Cada grado en la escala representa un 10% de diferencia en el índice de similitud.

La relación de las características epidemiológicas y la distribución clonal de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de  $\beta$ -lactamasas se muestran en la tabla 18 y 19. De las 11 cepas de enterobacterias 8 fueron aisladas en pacientes femeninas, de estas 5 pertenecían al grupo etario adulto mayor (68 -73). En todos los casos la permanencia del catéter vesical fue igual o mayor a los 5 días. El grupo clonal A2 de *E. coli* se distribuyó exclusivamente en el área de hospitalización T5 y el IIA de *K. pneumoniae* en observación mixta. En trauma shock se ubicaron los pacientes donde se aislaron los grupos clonales B y A1 de *E. coli* y IA de *K. pneumoniae*. En observación mixta además de la clona IIA de *K. pneumoniae*, también se encontró la A1 de *E. coli*.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

**Tabla 19.** Características epidemiológicas y distribución clonal de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de  $\beta$ -lactamasas en pacientes con ITUAC.

Cepa/Código	Edad	Sexo	Días	Área	Perfil de genes <i>bla</i> <sub>BLEES</sub>	Rep-PCR
<b><i>E. coli</i></b>						
LMM-15131.1	53	F	13	T5	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-2</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub> , <i>bla</i> <sub>KPC-2</sub>	A2
LMM-15131.2	32	F	14	T5	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-2</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub> , <i>bla</i> <sub>KPC-2</sub>	A2
LMM-1147	73	F	18	Observación	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-5</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	A1
LMM-1194.3	34	M	8	Trauma shock	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-2</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-14</sub> , <i>bla</i> <sub>KPC-2</sub>	B
LMM-1195	43	F	19	Trauma shock	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-5</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub> , <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	A1
LMM-1199	68	F	10	Trauma shock	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub>	A1
<b><i>K. pneumoniae</i></b>						
LMM-141060	71	F	5	Trauma shock	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	IA
LMM-1194.2	34	M	8	Trauma shock	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub>	IA
LMM-14195	19	M	10	Trauma shock	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	IA
LMM-524.1	71	F	12	Observación	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-2</sub>	IIA
LMM-14524.2	71	F	12	Observación	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> , <i>bla</i> <sub>KPC-2</sub>	IIA
<b><i>E. cloacae</i></b>						
LMM-1064	61	M	9	Trauma shock	<i>bla</i> <sub>TEM-1</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV-12</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub>	NA

Emerg Adultos: Emergencia adultos.

## ❖ DISCUSIÓN

Las ITU representan la principal entidad infecciosa nosocomial y de éstas, el 80% están asociadas al uso de catéter vesical <sup>87, 13</sup>. Esto se traduce en una estancia hospitalaria prolongada, mayor uso de antibióticos y los gastos en salud pueden incrementarse hasta 9.124 dólares por episodio de ITUAC, además de elevar en un 40% los riesgos de mortalidad. <sup>87, 88</sup>.

En el 1er. Consenso Venezolano de Infección Urinaria, suscrito en Caracas en el 2011 se señaló que en Venezuela no hay datos sobre la prevalencia de los distintos tipos de ITU, situación también compartida por otros países de Latinoamérica, Europa y Asia.<sup>89</sup> Por otra parte, en el IAHULA se desconoce la incidencia de las ITUAC, así como el impacto clínico-epidemiológico de estas sobre la población susceptible. En este sentido, luego de una exhaustiva revisión de la bibliografía nacional, consideramos que este trabajo es el primer reporte sobre el perfil microbiológico y la caracterización molecular de cepas de *Enterobacteriaceae* productoras ITUAC en un hospital público de cuarto nivel en Venezuela.

Los resultados de este estudio revelaron que el 52,02% de los pacientes con ITUAC presentaron urocultivos positivos. Esta frecuencia fue mayor a la reportada por Esquivel y col. (2007) <sup>4</sup> quienes encontraron un 35% de cultivos positivos en 120 adultos con sonda vesical reclusos en la Unidad de Alta Especialidad en un hospital tipo III, en México. De igual forma, De Lira y col. (2012) <sup>90</sup> describen una frecuencia de análisis microbiológicos positivos del 28,33% y 34,53% en pacientes con ITU asociados a sonda de Foley reclusos en un hospital de nivel II y III, respectivamente.

Algunos factores como la edad y el sexo se han asociado con el desarrollo de ITU <sup>91</sup>. Sin embargo, en las ITU complicadas estos factores epidemiológicos parecen no tener una influencia directa<sup>90, 91</sup>. En este estudio se observó que las ITUAC fueron más frecuentes en los pacientes mayores a 60 años, característica que fue independiente del sexo, tendencia que ha sido descrita en la literatura <sup>92, 25</sup>. Aproximadamente 4 de cada 10 pacientes admitidos en un hospital son portadores de un catéter vesical, por lo menos una vez durante su estancia <sup>4, 93</sup> y se conoce que comorbilidades como: diabetes mellitus, enfermedad renal crónica, neoplasias, patologías prostáticas y neutropenia son factores importantes para desarrollar ITUAC<sup>3</sup>. Sin embargo, en este estudio entidades como traumas craneoencefálicos y pacientes politraumatizados destacaron en importancia seguida por ACV isquémico o hemorrágico, es decir la presencia de diversas comorbilidades puede ser un factor favorecedor pero no determinante para el desarrollo de ITUAC en IAHULA. Es probable que además de las comorbilidades, en este escenario jueguen un papel importante otras circunstancias como las descritas por Murphy y col. (2015)<sup>94</sup>. Estos autores afirman que la toma inadecuada de decisiones relacionadas con la indicación, permanencia, cuidados del catéter vesical y la inexistencia de protocolos en los establecimientos de salud influyen considerablemente en la prevalencia de la ITUAC. Actualmente en el IAHULA se adolece de la aplicación de normativas o protocolos que orienten el uso oportuno y adecuado de las sondas vesicales en pacientes hospitalizados. Además, a esta deficiencia se le suma otros factores como la falta de vigilancia epidemiológica <sup>4</sup>, ausencia de un comité de enfermedades nosocomiales bien establecido <sup>95</sup>, así como la carencia de un personal capacitado en el cuidado oportuno de pacientes con cateterismo vesical <sup>4</sup>. Por consiguiente,

no sorprende el significativo aumento en la frecuencia de ITUAC en el IAHULA en comparación con otros centros de salud.

Por otro lado, el riesgo de desarrollar ITUAC oscila entre 3% y 10% por cada día de cateterización, alcanzando un 100% al día 30<sup>96, 97, 4, 93</sup>. Similares resultados se obtuvieron en este estudio, el porcentaje de cultivos positivos aumentó significativamente de un 2,7% en pacientes con menos de 5 días a un 100% en el día 26. Al-Hazmi (2015)<sup>92</sup> y Liedl B (2015)<sup>97</sup> reportaron que el 77% de los pacientes con urocultivos positivos estuvieron expuestos a canalización uretral prolongada por más de 8 días. Estos resultados confirmaron que el tiempo de cateterización es determinante para desarrollar ITUAC, de manera que este factor es clave para implementar medidas de prevención.

Holroyd-Leduc y col. (2007)<sup>98</sup>, señalan que la presencia de un catéter vesical se asocia a un riesgo mayor de mortalidad, que puede ser 4 veces más alta durante la hospitalización o incrementarse hasta 2 veces en los primeros 90 días después del alta médica. Aunque en este trabajo no se reportaron fallecimientos durante el periodo de estudio sería importante incluir este aspecto en estudios futuros.

El espectro microbiológico que causan ITUAC comúnmente está dominado por miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, siendo la *E. coli* la especie más frecuente.<sup>31, 44</sup> Por lo general la infección inicial suele ser monomicrobiana en los pacientes cateterizados y polimicrobiana en aquellos que permanecen sondados por más de 1 mes. En este estudio los cultivos monomicrobianos fueron los más frecuentes, pero al igual que Esquivel y col<sup>4</sup>. se encontró un predominio de especies de *Candida* como agentes etiológicos (44,7%), relegando al segundo lugar a las enterobacterias con un 29,8%, esto marca una significativa diferencia con los datos aportados por Al-Hazmi, (2015)<sup>92</sup>, Tajbakhsh y cols, (2015)<sup>99</sup>

y Caicedo, (2008)<sup>11</sup> quienes ubican a las levaduras en el 3° lugar de sus aislamientos. Por otra parte, Pigrau C. (2013)<sup>28</sup> refiere que la frecuencia de candiduria por *C. albicans* y otras especies oscila entre el 3 y 20% y es especialmente frecuente en pacientes hospitalizados en unidades de cuidado intensivo. Otros estudios<sup>100, 101</sup> atribuyen al uso abusivo de antibióticos de amplio espectro (cefalosporinas y carbapenemos) como la principal causa de candiduria.<sup>100</sup> Es probable que los resultados obtenidos en este trabajo hayan estado influenciados por el hecho de que el 83,6% de los pacientes incluidos en este estudio estaban bajo tratamiento con antibacterianos para el momento de la recolección de la muestra y de estos, el 43,8% tenían una terapia combinada con un carbapenemo.

Aunque todas las cepas de *Candida* aisladas en este estudio presentaron una amplia susceptibilidad a los agentes antifungicos probados, en la última década se ha insistido en la aparición de resistencia a imidazoles, especialmente fluconazol<sup>102</sup>. Esto justifica la necesidad de que siempre se proceda a identificar hasta la especie las levaduras aisladas, y evaluar la susceptibilidad *in vitro* previo a una decisión terapéutica, principalmente en los pacientes inmunodeprimidos y los que hayan recibido profilaxis o tratamientos anteriores con imidazoles<sup>28</sup>.

Otros agentes productores de ITUAC aislados en este estudio en menor frecuencia fueron los cocos Gram-positivos (15,20%), representados principalmente por especies de *Enterococcus*, seguidos por especies de *Staphylococcus*. Al igual que lo descrito en la literatura estos microorganismos se aislaron comúnmente en la población anciana con sondajes prolongados y permanentes y en infecciones polimicrobianas<sup>91</sup>. Ambos grupos bacterianos presentaron un patrón de resistencia dirigido a  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos y quinolonas, pero conservaron una buena susceptibilidad a vancomicina.

La *P. aeruginosa* es un conocido patógeno intrahospitalario, algunos estudios la reportan en un 10% aproximadamente en pacientes adultos con ITUAC<sup>28, 89, 91</sup>. Sin embargo, la mayor importancia clínica y epidemiológica radica en que poseen un alto riesgo de producir urosepsis<sup>28</sup>. Actualmente, Serrano R (2015)<sup>103</sup> reportó cepas de *P. aeruginosa* productora de metalo- $\beta$ -actamasa del tipo VIM-2 de origen urinario en pacientes adultos con sepsis en la emergencia de adulto del IAHULA. Del mismo modo, en este trabajo *P. aeruginosa* se aisló con una frecuencia del 6,4% y particularmente estas cepas mostraron una pobre susceptibilidad a cefalosporinas y carbapenemos, aminoglucósidos y quinolonas. Es relativamente frecuente el aislamiento de bacterias Gram-negativas multirresistentes en pacientes con sondaje prolongado, de hecho son un importante reservorio de microorganismos productores de  $\beta$ -lactamasas en ambientes intrahospitalarios<sup>28, 98, 104</sup>. En este contexto, desde hace más de una década se ha reportado un aumento de enterobacterias multirresistentes productoras de BLEE como causantes de infecciones asociadas a los cuidados de la salud en unidades de alto riesgo del IAHULA<sup>104, 105</sup>. Estas infecciones se han caracterizado por un cuadro epidemiológico complejo, en la cual se han involucrado clones bacterianos diferentes, presencia de distintas BLEE y sus combinaciones. Actualmente esta situación se ha agravado en vista de que las cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *E. cloacae* aisladas en este estudio, además de tener un perfil fenotípico compatible con la producción de BLEEs, en algunas cepas sorprendió la detección de mecanismos de resistencia a carbapenemos y a otros grupos de antibióticos, tales como quinolonas y aminoglucósidos.

La caracterización molecular demostró que las cepas de *E. coli* albergaron el mayor número de genes codificantes para  $\beta$ -lactamasas, encontrándose entre 3 y 6 genes diferentes.

Independientemente del grupo bacteriano, la presencia de *bla*<sub>TEM-1</sub> y *bla*<sub>CTX-M-15</sub> fue un hallazgo común. Al respecto, es oportuno mencionar que el año 2000 marcó la apertura de la pandemia de *E. coli* productora de CTX-M-15 y es en el 2013 cuando Redondo y col (2013)<sup>106</sup> registran por primera vez cepas de *Enterobacteriaceae* portadoras de esta enzima en varios hospitales en Caracas. En este contexto, en el 2014, Hernández y col<sup>107</sup> y Millán y col (2013)<sup>108</sup>. Describen cepas de *E. coli* uropatógenas productoras de CTX-M-15 en pacientes con ITU en Mérida. Sin embargo, es a partir del estudio de Abreu y col. (2014)<sup>109</sup> realizado en el IAHULA donde se documenta por primera vez la circulación de *E. coli* portadora del gen *bla*<sub>CTX-M-8</sub> asociada con otras BLEEs como *bla*<sub>TEM-1</sub> y *bla*<sub>CTX-M-9</sub>. En este estudio 5 de las 6 cepas de *E. coli* se les detectó el gen *bla*<sub>CTX-M-8</sub>, al igual que en *E. cloacae*. En relación a las cepas de *K. pneumoniae*, estas presentaron un perfil de  $\beta$ -lactamasas menos complejo que *E. coli*, no obstante, permanecieron como un patógeno nosocomial usual e importante en pacientes IAHULA<sup>104, 104</sup>.

Los carbapenemos son considerados la terapia de primera línea para el tratamiento de infecciones graves producidas por bacterias Gram-negativas multirresistentes, especialmente cepas productoras de BLEEs. Desafortunadamente, el uso extensivo de los carbapenemos ha resultado en un incremento sostenido de cepas de *Enterobacteraceae* resistentes<sup>110</sup>. La producción de carbapenemasas, enzimas que hidrolizan los carbapenemos, son el mecanismo resistencia bacteriano más importante desde el punto de vista clínico y epidemiológico. En este estudio se demostró que 5 de las 6 cepas de *E. coli* y 3 de las 5 de *K. pneumoniae*, además de la producción de BLEEs portaban genes codificantes para carbapenemasas. De estas, 3 *E. coli* y una *K. pneumoniae* eran productoras KPC-2 y 2 *E. coli* y 2 *K. pneumoniae* produjeron metalo- $\beta$ -lactamasa del grupo

VIM-2. Aunque el registro de cepas productoras de KPC es escaso en IAHULA, recientemente, Labrador y Araque (2014)<sup>110</sup> reportaron una cepa de *K. oxytoca* coproductora de KPC-2, CTX-M-8 y TEM-15 aislada en un paciente pediátrico con neumonía nosocomial en la unidad de alto riesgo neonatal del IAHULA. Por otra parte, a pesar de que las metalo-enzimas tipo VIM han sido detectadas solo en cepas *P. aeruginosa* en el IAHULA<sup>111</sup> y en otros hospitales del país<sup>112</sup>, destaca el hallazgo de esta  $\beta$ -lactamasa en cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* en pacientes con ITUAC hospitalizados en el IAHULA. Este resultado es preocupante, lo que indica que antibióticos de reserva para el tratamiento de infecciones graves producidas por microorganismos resistentes dejan de ser alternativas eficaces, especialmente cuando se utilizan en forma empírica en la ITU nosocomial.

El análisis de las relaciones genéticas de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* reveló que en ambos grupos bacterianos se identificaron 2 grupos clonales, los cuales se concentraron mayoritariamente en la unidad de trauma shock de la emergencia de adulto. Este hallazgo indica que desde el punto de vista de la epidemiología molecular, esta área se comporta como el principal nicho para el intercambio y recombinación de genes codificantes para BLEE y carbapenemasas en bacterias Gram-negativas y representa el área de mayor riesgo y distribución de clonas multirresistentes.

Los hallazgos obtenidos en este estudio permiten señalar que, si bien, las especies de *Candida* fueron los agentes más frecuentemente aislados en las ITUAC en el IAHULA y que estas presentaron una excelente susceptibilidad a los antifúngicos, otros agentes etiológicos como las enterobacterias resaltaron por albergar genes que median la producción de BLEEs y carbapenemasas. Esta situación es alarmante no solo porque las

opciones terapéuticas son limitadas, sino también porque las alternativas terapéuticas como colistina o tigeciclina no son de fácil acceso por su elevado costo y escasa disponibilidad en el país. Por otra parte, se evidencia la necesidad urgente de implementar programas para prevenir y controlar la diseminación de clonas bacterianas multirresistentes, así como establecer estrategias efectivas que permitan racionalizar el uso de los antimicrobianos.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

❖ **CONCLUSIONES**

1. El 52,02% de los pacientes con ITUAC presentaron urocultivos positivos. Estas infecciones fueron más frecuentes en los pacientes incluidos en el grupo etario de más de 60 años. El ACV isquémico o hemorrágico fue la comorbilidad más frecuente.
2. El tiempo de permanencia del catéter vesical fue el principal factor de riesgo para desarrollar ITUAC.
3. La mayoría de los pacientes estudiados estaban siendo tratados con antibióticos de amplio espectro, previo al estudio microbiológico.
4. Especies de *Candida* fueron los agentes más frecuentemente aislados. Esta levaduras conservaron la sensibilidad a los antifúngicos probados.
5. Las cepas de *Enterobacteriaceae* aisladas se caracterizaron por una amplia resistencia a los agentes antimicrobianos en el que se incluyeron las cefalosporinas y carbapenemos.
6. *E. coli*, *K. pneumoniae* y *E. cloacae* fueron productoras por lo menos 3 de tipos de tipos de  $\beta$ -lactamasas, siendo las más frecuentes TEM-1 y CTX-M-15.
7. La mayoría de las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* fueron coproductoras de carbapenemasas KPC-2 y VIM-2.
8. Las relaciones clonales de *E. coli* y *K. pneumoniae* permitieron dividir estos grupos bacterianos en dos clonas para cada especie, distribuyéndose principalmente en el área de trauma shock de la emergencia de adulto del IAHULA. Esta área es la de mayor riesgo epidemiológico y la fuente principal de enterobacterias multirresistentes.

❖ **RECOMENDACIONES**

- ✓ Establecer protocolos y unificar consensos en materia del uso de catéteres vesicales destinados a esclarecer posibles dudas en la indicación y seguimiento de éstos dispositivos en el IHULA.
- ✓ Entrenar el personal calificado en el manejo y cuidado de los pacientes portadores de catéter urinario.
- ✓ Crear y poner en funcionamiento el comité de enfermedades nosocomiales del IAHULA.
- ✓ Ampliar y profundizar los estudios destinados a determinar el agente etiológico de ITUAC y determinar su patrón de susceptibilidad en todas las áreas de hospitalización del IAHULA.
- ✓ Incluir los estudios genéticos para la determinación de genes codificantes de  $\beta$ -lactamasas y otros mecanismos de resistencia en las cepas de interés nosocomial.
- ✓ Adoptar las medidas de control y manejo establecidas por la OPS y la OMS para manejo de pacientes con infecciones causadas por bacterias productoras de carbapenemasas.
- ✓ Realizar estudios de epidemiología molecular y medir el riesgo hospitalario de sufrir posibles brotes o epidemias de infecciones causadas por gérmenes multirresistentes en el IAHULA.
- ✓ Optimizar el uso adecuado de antibióticos según estudios epidemiológicos locales adaptados a lo propuesta por organismos internacionales dedicados al estudio de la multirresistencia bacteriana.

❖ **BIBLIOGRAFÍA.**

1. Ribeiro M, Yano T, Da Silva D. Genotypic Characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains from patients with cystitis. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 2008; 50(5): 255-260.
2. Cabrales RA, Gómez E, Giraldo C, Loaiza D, Ramos ME. Infección del tracto urinario asociada a catéter (ITUAC) en pacientes quirúrgicos. Un estudio prospectivo. Rev Med Resaralda. 2010;16 (2):5-14
3. Villa S, Novau A, Giuffre C, Scherer M, Alvarez C, Castilla A, Margalejo S. Recomendaciones para la prevención de infecciones del tracto urinario asociadas a catéteres urinarios. ECI puesta al día volumen 3 - NO. 2 –2011: 340-350
4. Esquivel CG, Barbachano E, Avila GH, Celis F, Alonso SE, Gonzalez M. Perfil microbiológico en infección urinaria asociada a catéter vesicouretral. Medicrit. 2007; 4 (3):59-65.
5. Martínez J, Cobos-Trigueros N, Mensa J. Infección urinaria asociada a catéteres urinarios. En: Pigrau C. Infección del Tracto Urinario. Ed. Saval. Barcelona, España. 2013, p.p: 121-136.
6. Kariuki S, Revathi G, Corkill J, Kiiru J, Mwituria J, Mirza N, Hart C. . *Escherichia coli* from community acquired urinary tract infections resistant to fluoroquinolones and extended-spectrum beta-lactams. *J Infect Developing Countries*, 1(3), 257-262.
7. Berri R, Klumpp D, Schaeffer A. Urothelial cultures support intracellular bacterial community formation by uropathogenic *Escherichia coli*. Infection and Immunity. 2009; 77(7): 2762-772.

8. Blango M, Mulvey M. Persistence of uropathogenic *Escherichia coli* en the face of multiple antibiotics. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 2010;54(5), 1855-1863
9. Arredondo-García, y Amábile-Cuevas C. High Resistance Prevalence towards Ampicillin, Co-trimoxazole and Ciprofloxacin, among Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates in Mexico City. *J Infect Developing Countries*. 2008; 2(5), 350-353.
10. Gallardo M, Magaña M, Andrade H, Jiménez M, Sánchez K, Fragoso L. Resistencia a fármacos empleados en infección de vías urinarias en pacientes de primer contacto en una Unidad de Medicina Familiar del IMSS. *Enf Inf Microbiol*, 2008; 28(1), 13-18.
11. Caicedo P, Martínez T, Meneses E, Joaqui W, Imbachí R, Mahe D, Ramirez E. Etiología y Resistencia Bacteriana en Infección de Vías Urinarias en el Hospital Universitario San José de Popayán, Colombia entre Enero y Diciembre de 2008. *urol.colomb*. 2009; 18(3), 45-52
12. Murillo O, Lal A, Eslava J. Uso de antibióticos en infección de vías urinarias en una unidad de primer nivel de atención en salud Bogotá Colombia. *Revista de Salud pública*. 2006; 8,170-81
13. Salom R, Navas P. Vulnerabilidad de los hospitales ante una amenaza específica: las infecciones intrahospitalarias. *Ciencia Odontológica*. 2014; 20107137-149. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=205219754005>. Fecha de consulta: 16 de septiembre de 2014.

14. Grabe M, Bishop M, Bjerklund-Johansen T, Botto H, Çek M, Lobel B, Naber K, Palou J, Tenke P, Wagenlehner F. (2009) Guidelines on Urological Infections. *European Association of Urology*.
15. Elisa Vidal V, Carmen Lama H, Carmen Barros R. Actualización del documento de consenso sobre infecciones del tracto urinario. *Avances en enfermedades infecciosas* 2012 volumen 13 suplemento 1.
16. Tamayo J, Orden B, Cacho J, Cuadros J, Gómez-Garcés J. Alós J. Activity of ertapenem and other antimicrobials against ESBL-producing enterobacteria isolated from urine in patients from Madrid. *Rev Esp Quimioterap*. 2007; 20(3), 234-238.
17. García A, Duque P, Ueetia L, García A, Martínez E. Análisis de los factores de riesgo de infección del tracto urinario asociada con sonda vesical en la UCI. *Rev Colomb Cir* 2005; Vol.20 N° 3
18. Adib N, Ghanbarpour R, Solatzadeh H, Alizalde H. Antibiotic resistance profile and virulence genes of uropathogenic *Escherichia coli* in relation to phylogeny. *Tropical Biomedicine* 2014; 31(1): 17-25
19. Gupta V, Rani H, Singla N, Kasistha N, Chandler J. Determination of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases and AmpC Production in uropathogenic Isolates of *Escherichia coli* and susceptibility to Fosfomycin. *J Lab Physicians* 2013 Jul-Dec; 5(2): 90-93. Doi: 10.4103/0974-2727.119849
20. Araque M, Millán B, Mendoza E, Salas M. CTX-M-32  $\beta$ -lactamase-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated in Latin America. *Journal Infection Developing Countries* 2013; 7(5): 432-435.

21. López, D. Carrillo, E. Leyva, M. Orozco, G. Manjarrez, A. Escalante, S. *Et all.* Identification of Virulence Factors Genes in *Escherichia coli* Isolates from Women with Urinary Tract Infection in Mexico. *BioMed Research International* 2014; 959206, 10 pages.
22. Mandell G., Bennet J. y Dolin R. *Enfermedades Infecciosas: Principios y Práctica.* (6<sup>ta</sup> Ed.). España. *Elsevier* 2006; 875-905.
23. De Backer D., Christiaens T., Heytens S., Sutte A., Stobberingh E. y Verschraegen G. Evolution of bacterial susceptibility pattern of *Escherichia coli* in uncomplicated urinary tract infections in country with high antibiotic consumption: a comparison of two surveys with a 10 year interval. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2008; 62, 364-368.
24. Rodríguez-Baño J., Alcalá J., Cisneros J., Grill F., Oliver A., Horcajada J., Tórtola T., Mirelis B., Navarro G., Cuenca M., Esteve M., Peña C., Llanos A., Cantón R. y Pascual A. Community Infections Caused by Extended-Spectrum *B*-Lactamase Producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med* 2008; 168(17), 1897-1902.
25. Seija V., Frantchez V., Pintos M., Noel M., Torales M., Díaz A. y Dufrechou C. Etiología de la infección urinaria de adquisición comunitaria y perfil de susceptibilidad de *Escherichia coli* a los principales agentes antimicrobianos. *Rev Med Urug* 2010; 26, 14-24.
26. Rodríguez-Martínez JA, Mensa J. Infección urinaria asociada a catéteres urinarios en la comunidad. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23 (Supl 4):57-66.

27. Colebaugg D, Kleiger E, Plachter M, Thomsom S. Reducing Catheter-Associated urinary Tract Infections: A quality-improvement iniciative. *Pediatrics* 2014; volume 13, umber 3.
28. Pigrau C. Infecciones del tracto urinario nosocomiales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013; 31(9):614-624.
29. Kothari A. y Sagar V. Antibiotic resistance in pathogens causing community-acquired urinary tract infections in India: a multicenter study. *J Infect Developing Countries* 2008; 2(5), 354-358
30. Donnenberg, M.S. *Escherichia coli: Virulence Mechanisms of a Versatile Pathogen.* USA: *Elsavier Science Inc* 2008.
31. Rodriguez, G. (2002). Principales características y diagnósticos de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública México*, 44 (5): 464-475.
32. Catalogue Of Life: anual checklist disponible en URL: [http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2014/details/species/id/4260649\\_](http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2014/details/species/id/4260649_) Revisado el 20/08/2014.
33. Integrated Taxonomic information System (ITIS) disponible en URL: [http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=285](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=285) Revisado el 20/08/2014.
34. NCBI-Taxonomy disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=562&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=f> Revisado el 20/08/2014.
35. Murray, P, Rosenthal, K. y Pfaller, M. *Microbiología Médica.* (6ª edición). *Elsevier S.A* 2009.

36. Koga, L Vanessa, Geizecler Tomazetto, Paula S. Cyويا, Meiriele S. Neves, MarildaC.Vidotto, Gerson Nakazato y RenataK. T. Kobayashi. Molecular Screening of Virulence Genes in Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Isolated from Human Blood Culture in Brazil. *BioMed Research International Volume* 2014; Article ID 465054, 9 pages
37. Pitout, J. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: a combination of virulence with antibiotic resistance. *Front Microbi* 2012; 3 (9).
38. Wiles T., Kulesus R., Mulvey M. Origins and Virulence Mechanisms of Uropathogenic *Escherichia coli*. *NIH Public Access. Exp Mol Pathol.* 2009; 85(1): 11–19. doi:10.1016/j.yexmp.2008.03.007
39. Blanco, M.; Blanco, J.; Blanco, J.; Alonso, M.; Abalia, I.; Rodriguez, E.; et all. Factores de virulencia y serogrupos O de *Escherichia coli* causantes de infecciones urinarias comunitarias. *Enfermedades infecciosas y microbiología Clinica* 1995; 13 (4): 236- 241.
40. Soto, C. Expresion de factores de virulencia en cepas extraintestinales de *Escherichia coli*. *Enfermedades infecciosas y microbiología Clinica* 2006; 24 (8): 479-480.
41. Ananias, M.; Yano, T. Serogrupos and virulence genotypes of *Escherichia coli* Isolated from patients with sepsis. *Brazilian Journal of Medical Biological research* 2008; 41 (10): 877- 883
42. Zalewska, B, Wilkanowicz, S, Piatek, R, Kurt, J. (2009) Biofilm formation as a virulence determinat of uropathogenic *Escherichia coli* dr Strain. *Polish Journal Of Microbiology.* 2009; 58 (3): 233-299

43. Karisik, E.; Ellington, M.; Livermore, D.; Woodford, N. (2008). Virulence factors in *Escherichia coli* with CTX-M-15 and other extended spectrum B-lactamases in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61,54-58
44. Pacheco C, Felipe I. Características patogénicas de *Escherichia coli*. *Semina*, 1991; 12 (2):83-90.
45. Emödy L, Kerenyi, M, Nagy G. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2003; 22:
46. Andreu A. Patogenia de las infecciones del tracto urinario. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2005; 23 (Supl 4):15-21.
47. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66:4555-4558
48. Pitout J. (2012) Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: a combination of virulence with antibiotic resistance. 2012; *Front Microbio*, 3 (9).
49. Goldman E, Green L. Practical Handbook of Microbiology. (2<sup>d</sup> Ed). *United States (CRC Press, Taylor & Francis Group LLC)* 2009; 217-27.
50. Mosquito S, Ruiz J, Bauer J, Ochoa T. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 2011; 28(4): 648-656.
51. Perozo A y Castellano M. Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido en cepas de la familia *Enterobacteriaceae*. *Kasmera* 2009; 37(1): 25 – 37.

52. García C, Pardos M, Castillo F. (2010) Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. *Enferm Infecc Microbiol Vlin.*; 28 (sulp 1): 12-8.
53. Cortés J, Urdaneta A, Potdevin G, Cuervo S, Bermudez D, Molina C, Arroyo P. Impacto de las B-lactamasas de espectro extendido en pacientes con cáncer. *Rev Colomb Cancerol* 2006; 10(3):183-196.
54. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum B- lactamases: The CTX-M enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004; 48(1), 1-14.
55. Harada S, Ishii Y, Yamaguchi K. Extended-spectrum B-lactamases: implications for the clinical laboratoy and therapy. *Korean J Lab Med* 2008; 28, 401-12.
56. Mattar S, Martínez, P. Emergencia de la resistencia antibiótica debida a B-lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiologia. *Infectio* 2007; 11(1), 23-25.
57. Ochoa ML, Harrington PB. Immunomagnetic isolation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef and identification by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and database searches. *Anal Chem* 2005; 15;77(16):5258-67
58. Pitout, J.; Church, D.; Gregson, D. Chow, B.; McCracken, M.; Mulvey, M.; Laupland, K. Molecular epidemiology of CTX-M-Producing *Escherichia coli* in Calgar Health Regions: emergence of CTX-M-15-producing isolates, *Antimicrobial Agents and chemotherapy* 2007; 51(14), 1281-6
59. Peirano G., Richardson D., Nigrin J., McGeer A., Loo V., Toye B., Alfa M., Pienaar C., Kibsey P. Pitout J. High Prevalence of ST131 Isolates Producing CTX-M-15

and CTX-M-14 among Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates from Canada *Antimicrob. Agents Chemother* 2010; 54, 1327 – 30.

60. Karim A., Poirel L., Nagarajan S. y Nordmann P. Plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence ISEcp1. *FEMS Microbiol. Lett* 2001; 201, 237–241
61. Pitout J. Infections with Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Changing Epidemiology and Drug Treatment Choices. *Drugs* 2010; 70 (3), 313-333.
62. Oteo J, Pérez-Vázquez M, Camposa J. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2010; 23:320–326.
63. Ayala J, Coque T, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, and Woodford N. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2007; 59, 165–174.
64. Cantón R, Coque T. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr. Opin. Microbiol* 2006; 9, 466–475.
65. McGettigan Sh, Hu B, Andreacchio K, Nachamkin I, Edelstein P. Prevalence of CTX-M betalactamases in Philadelphia, Pennsylvania. *J Clin Microbiol* 2009; 47, 2970-2974.
66. Sidjabat H, Paterson D, Adams-Haduch J, Ewan L, Pasculle A, Muto C. (2009). Molecular epidemiology of CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates at a tertiary medical center in Western Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53, 4733-4739.

67. Andrade S., Sader H., Jones R., Pereira A., Pignatari A. Gales A. Increased Resistance to First-line Agents among Bacterial Pathogens Isolated from Urinary Tract Infections in Latin America: Time for Local Guidelines? Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 2006; 101(7), 741-8.
68. Comegna M, Guzmán M, Carmona O, Molina M, Grupo Colaborativo del Grupo Venezolano de Resistencia Bacteriana. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela- Nuevos hallazgos. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 2000; 20(1):88-98.
69. Torres L., Gagliotta V., Torres O. y col. (2006).  $\beta$ -Lactamasas de Espectro Expandido en Enterobacterias aisladas en Centros de Salud de Caracas. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 26(2), 80-88.
70. Guzmán M. y Alonso G. Caracterización de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas nosocomiales de *K. pneumoniae*. Sucre-Venezuela. *invest. Clín.* 2009; 50(4), 419-431.
71. Hernandez E. (2014). Perfil fenotípico y molecular de *Escherichia coli* uropatógena productora de  $\beta$ -lactmasa de espectro expandido. Trabajo especial de grado presentado en la facultad de bio análisis de la Universidad de los andes.
72. Guillén L. (2014). Introducción a las bases celulares y mecanismos moleculares de la patogenia de *Escherichia coli* en el hospedero humano. . Trabajo especial de grado presentado en la facultad de bio análisis de la Universidad de los andes.
73. Fernández C. (2004) Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 2004; 22 (6), 355-360.

74. Toro E, Miró A, Ugarte C, Larrea F. (2010). Electroforesis de campo eléctrico pulsado en la tipificación molecular de cepas aisladas de un brote de Salmonelosis ocasionado por consumo de queso contaminado con *Salmonella* Javiana. *Revista del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”*, 41 (2), 22-26.
75. Martin, J.B. Estudio de las comunidades microbianas de embutidos fermentados ligeramente acidificados mediante técnicas moleculares. Estandarización, Seguridad y mejora tecnológica. *Universitat de Girona; Girona. 2005.*
76. Bedolla, C. (2007). *Uso actual de las técnicas moleculares en el análisis y tipificación de microorganismos patógenos.* Recuperado el 16 de Febrero del 2013, de <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/sanidad/articulos/uso-actual-tecnicas-moleculares-t1814/p0.htm>.
77. Vierstraete A. Principle of the PCR. (1999). Recuperado el 27 de agosto Del 2014, de <http://users.ugent.be/~avierstr/principles/pcr.html>.
78. Clinical and Laboratory Standards Institute. Document M100-S232. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Table 2A. Zone diameter and minimal inhibitory concentration (MIC) interpretative standards for *Enterobacteriaceae* M02 and M07. Vol. 33, N° 1, 23<sup>th</sup> informational supplement. Wayne, PA: CLSI. 2014. p. 44-57.
79. Giamarellou H, Poulakou G. Multidrug-Resistant Gram-Negative Infections. What are the Treatment Options? *Drugs*, 2009; 69(14), 1879-1901.
80. Sánchez J, Guillán C, Fuster C, López R, González M, Raya C, García J. (2008). Evolución de la Resistencia a Antibióticos de *Escherichia coli* en Muestras de Orina Procedentes de la Comunidad. *Arch. Esp. Urol.*, 61(7), 776-780.

81. Millán Y, Hernández E, Millán B, Araque M. Distribución de grupos filogenéticos y factores de virulencia en cepas de *Escherichia coli* uropatógena productora de beta-lactamasa CTX-M-15 aisladas de pacientes de la comunidad en Mérida, Venezuela. *Rev Argent Microbiol*. 2014 (en prensa, Mayo-2014)
82. Lozano D, Cisneros J, Becerril B, Cuberos L, Prados T, Ortíz C, Cañas E, Pachón J, Mahillon J, Chandler M. Comparison of repetitive extragenic palindromic sequence-based PCR clinical and microbiological methods for determining strain sources in cases of nosocomial *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *J Clin Microbiol* 2002; 40(12):4571-4575.
83. Di Conza, Ayala JA, Power P, Mollerach M, Gutkind G. Novel class 1 integron (InS21) carrying *bla*<sub>CTX-M-2</sub> in *Salmonella enterica* serovar infantis. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:2257-2261.
84. Eckert C, Gautier V, Arlet G. DNA sequence analysis of the genetic environment of various *bla*<sub>CTX-M</sub> genes. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:14-23.
85. MA L, Chang FY, Fung CP, Chenn LT, Lin JC, Lu PL, Huang JC, Siu LK. Variety of TEM, SHV and CTX-M type beta-lactamases presente in recent clinical isolates of *Escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* from Taiwan. *Microb drug Resist* 2005; 11:31-39.
86. Johnson JR, Stell AL. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J Infect Dis*. enero de 2000; 181(1):261-72.
87. Carolyn V. G., Craig A., Rajender K. A., Gretchen K, David A. Guideline for prevention of catheter associated urinary tract infections. *Healthcare Infection*

*Control Practices Advisory Committee (HICPAC). CDC Guideline. (2009).*

Disponible en [http://www.cdc.gov/hicpac/cauti/001\\_cauti.html](http://www.cdc.gov/hicpac/cauti/001_cauti.html). Fecha de consulta: 16 de septiembre de 2014.

88. Casellas J, Farinati A, Tomé G, Ramón P, Sosa A. La gaceta de infectología y microbiología Clínica latinoamericana vol 1 n°3 – setiembre 2011. Disponible en [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=15324&Itemid=](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=15324&Itemid=) consultada 16/10/15.
89. Borregales L, Giordano F, Contreras L, (ed) Primer consenso venezolano de infección urinaria, 2011, Caracas Editorial Ateproca, 2011, pp. 100.
90. De Lira Torres MA, Flores-Santo A, Fragoso-Morales LE, Oliva-Ramírez BY, López E, Márquez ML, artinezCastellanos AY, Velarde del Rio LT. Infecciones del tracto urinario asociado a catéter vesical. Áreas de irugía y medicina interna de dos hospitales del sector público. *Enf. Inf. Microbiol.* 2012; 33(1): 13-18.
91. Cabrales-Vega R, Gómez-LassoE, Giraldo-Villegas C, Loaiza-Bedoya D, Ramos-Obando ME. Infección del tracto urinario asociada a cateter (ITUAC) en pacientes quirúrgicos. Un estudio prospectio. *Rev. Med. Risaralda.* 2010; 16(2):5-14.
92. Al-Hazmi H. Role of duration of catheterization and length of hospital stay on the rate of catheter-related hospital-acquired urinary tract infections. *Res Rep Urol.* 2015;7:41-7.
93. Lo E, Nicolle LE, Coffin SE, Gould C, Maragakis LL, Meddings J, et al. Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute care hospitals: 2014 update. *Infect Control Hosp Epidemiol.* septiembre de 2014;35 Suppl 2:S32-47.

94. Murphy C, Prieto J, Fader M. «It's easier to stick a tube in»: a qualitative study to understand clinicians' individual decisions to place urinary catheters in acute medical care. *BMJ Qual Saf.* julio de 2015;24(7):444-50.
95. Cabrera J, Holder R, Pilar R y Salvatierra G. Organización panamericana de la salud vigilancia epidemiológica de las infecciones asociadas a la atención de la salud módulo III. 2012. Recuperada de [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=21399&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=21399&Itemid)
96. Martinez R P, Espinal M P, Bustos G A, Velilla S. Prevalencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), en el Hospital San Jerónimo de Montería. *Med Unab.*2005;(8):15-22
97. Liedl B. [Catheter-associated urinary tract infections]. *Urol Ausg A.* septiembre de 2015; 54(9):1301-10.
98. Holroyd-Leduc JM, Sen S, Bertenthal D. The relationship of indwelling urinary catheters to death, length of hospital stay, functional decline, and nursing home admission in hospitalized older medical patients. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2007; 55(2):227-233.
99. Tajbakhsh E, Tajbakhsh S, Khamesipour F. Isolation and Molecular Detection of Gram Negative Bacteria Causing Urinary Tract Infection in Patients Referred to Shahrekord Hospitals, Iran. *Iran Red Crescent Med J.* mayo de 2015; 17(5):e24779.
100. Mishra M, Agrawal S, Raut S, Kurhade AM, Powar RM. Profile of yeasts isolated from urinary tracts of catheterized patients. *J Clin Diagn Res JCDR.* febrero de 2014;8(2):44-6.

101. Padawer D, Pastukh N, Nitzan O, Labay K, Aharon I, Brodsky D, et al. Catheter-associated candiduria: Risk factors, medical interventions, and antifungal susceptibility. *Am J Infect Control*. 1 de Julio de 2015; 43(7):e19-22.
102. Morera Y, Torres-Rodríguez JM, Catalán I, Granadero A, Josic Z, Álvarez-Lerma F. Candiduria en pacientes con sonda uretral ingresados en una unidad de cuidados intensivos. Etiología y sensibilidad in vitro al fluconazol. *Med. Crit*. 2002; 118 (15).
103. Serrano R. Caracterización fenotípica y molecular de bacilos Gram negativos multirresistentes productores de sepsis en pacientes hospitalizados en el servicio de emergencia adultos y la unidad de trauma shock del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, Mérida, Venezuela. 2015. Trabajo especial de grado presentado ante el consejo de la facultad de medicina de la universidad de los andes, como credencial de mérito para la obtención del grado de medicina interna.
104. Araque M, Rivera I. Simultaneous Presence of *bla*<sub>TEM</sub> and *bla*<sub>SHV</sub> genes on a large conjugative plasmid carried by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *American Journal of Medical Science*. 2004; 327 (3):118-122.
105. Araque M, Nieves B, Lauretti L, Rossolini GM. Molecular basis of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Mérida, Venezuela. *International Journal of Agents Antimicrobial*. 2000; 15: 37-42.
106. Redondo C, Chalbaud A, Alonso G. Frequency and diversity of CTX-M enzymes among extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates from Caracas, Venezuela. *Microb Drug Resist*. 2013; 19: 42-47.

107. Hernandez E, Araque M, Millán Y, Millán B, Vielma S. Prevalencia de  $\beta$ -lactamasa CTX-M-15 en grupos filogenéticos de *Escherichia coli* uropatógena aisladas en pacientes de la comunidad de Mérida, Venezuela. *Investigación Clínica*. 2014; 55(1):32-43.
108. Millán B, Castro D, Ghiglione B, Gutkind G, Araque M. ISCR1 asociado a genes *bla*<sub>CTX-M-1</sub> y *bla*<sub>CTX-M-2</sub> en plásmidos IncN e IncFIIA aislados en *Klebsiella pneumoniae* de origen nosocomial en Mérida, Venezuela. *Biomédica*. 2013; 33: 268-275.
109. Abreu S, caracterización molecular de las  $\beta$ -lactamasas de espectro extenso en enterobacterias productoras de infección nosocomial en adultos: servicios de hospitalización del instituto autónomo hospital universitario de los andes, Mérida Venezuela marzo-julio 2013. Trabajo especial de grado presentado ante el consejo de la facultad de medicina de la universidad de los andes, como credencial de mérito para la obtención del grado de medicina interna.
110. Labraor I, Araque M. First description of KPC-2-producing *Klebsiella oxytoca* isolated from a pediatric patient with nosocomial pneumonia in Venezuela. *Case Reports Infect. Dis.* 2014. doi.org/10.1155/2014/434987.
111. Salazar P, Araque M, Mosqueda N. Análisis fenotípico y detección del gen *bla*<sub>VIM</sub> en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de metalo  $\beta$ -lactamasas provenientes de Mérida, Venezuela. *Revista Facultad de Farmacia*. 2010; 52(1): 17-22.
112. Guevara A, de Waard J, Araque M. Detección del gen *bla*<sub>VIM-2</sub> en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de metalo  $\beta$ -lactamasa aisladas en una unidad

PERFIL MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES URINARIAS...

de cuidados intensivos en Ciudad Bolívar, Venezuela. *Revista Chilena de Infectología*. 2009; 26 (4): 328-333.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)