

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA BIOQUIMICA



**“DETERMINACION DE LA FRECUENCIA DE
SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LAS
QUINOLONAS EN CEPAS DE *Escherichia coli*
PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO
URINARIO EN PACIENTES DEL HOSPITAL
OBRERO Nro. 1 DURANTE
LA GESTIÓN, 2008-2009”**

AUTOR: UNIV. ROSMERY BETTY MENDOZA CONDORI

TUTOR: Msc. Bioq. Juan E. Callisaya H.

**TESINA DE INVESTIGACIÓN PARA EL TÍTULO ACADÉMICO DE
LICENCIATURA EN BIOQUIMICA**

**LA PAZ – BOLIVIA
2010**





UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA BIOQUIMICA



TESINA

**“DETERMINACION DE LA FRECUENCIA DE
LA SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LAS
QUINOLONAS EN CEPAS DE *Escherichia coli*
PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO
URINARIO EN PACIENTES DEL HOSPITAL
OBRERO Nro. 1 DURANTE
LA GESTION, 2008-2009”**

POSTULANTE: ROSMERY BETTY MENDOZA CONDORI

TUTOR: MSC. BIOQ. JUAN E. CALLISAYA H.

**TRIBUNAL CALIFICADOR: Dr. BERNARDO TORRICO ARZADY; M.Sc.
Dr. ENRIQUE TERRAZAS SILES; M.Sc.**

**LA PAZ – BOLIVIA
2010**



INDICE

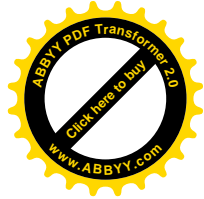
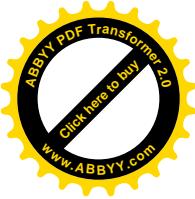
	Página
RESUMEN	
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 ANTECEDENTES.....	1
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	4
1.4 MARCO TEÓRICO.....	6
1.4.1 Concepto.....	6
1.4.2 Acido Nalidixíco.....	7
1.4.3 Fluoroquinolonas.....	8
1.4.4 CLASIFICACION.....	9
1.4.4.1 Estructura Química.....	9
1.4.4.2 Dianas principales de las Fluoroquinolonas.....	11
1.4.5 RELACIÓN ENTRE ESTRUCTURA Y ACTIVIDA.....	12
1.4.6 MECANISMO DE ACCION DE LAS QUINOLONAS.....	14
1.4.7 MECANISMOS DE RESISTENCIA DE MICROORGANISMOS A QUINOLONAS FLUORADAS.....	17
1.4.8. ENZIMAS BACTERIANAS CAPACES DE DEGRADAR O INACTIVAR A LAS QUINOLONAS.....	22
1.4.9 CEPAS MUTANTES MAR DE <i>Escherichia coli</i>	23
1.4.10 SISTEMA DE TRANSPORTE EN <i>Escherichia coli</i>	25
1.4.11 La ADN-girasa, la topoisomerasa IV, y el 4-quinolonas.	26
1.4.12 El papel de la <i>Escherichia coli</i> en la Infección Urinaria:.....	27



2. OBJETIVOS	30
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	30
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3. DISEÑO METODOLÓGICO	31
3.1 UNIVERSO Y MUESTRA	32
3.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	32
3.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	32
3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	34
3.5 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	34
3.5.1 Muestra.....	34
3.5.2 Procedimientos y análisis.....	34
3.6 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	35
3.6.1 Materiales.....	35
3.6.2 Equipos.....	35
3.6.3 Reactivos.....	36
3.6.4 TOMA DE MUESTRA.....	36
3.6.4.1 Mujeres.....	37
3.6.4.2 Hombres.....	37
3.6.5 UROCULTIVO.....	38
3.6.5.1 PROCEDIMIENTO DE LA SIEMBRA.....	38
3.6.5.2 Incubación de la muestra.....	39
3.6.5.3 Lectura e interpretación.....	39
3.6.6 Antibiograma.....	40
3.6.6.1 Preparación del medio.....	40
3.6.6.2 Preparación del inóculo	40
3.6.6.3 Procedimiento de la siembra.....	41
3.6.6.4 Utilización de los discos.....	41



3.6.6.5 Lectura del antibiograma.....	41
3.6.7 Pruebas bioquímicas.....	42
4. RESULTADOS	43
5. DISCUSION.....	59
6. CONCLUSIONES.....	63
7. BIBLIOGRAFIA.....	66
8 ANEXOS.....	70



INDICE DE TABLAS

Tabla Nº 1. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA AL ÁCIDO NALIDÍXICO EN MUESTRAS DE *Escherichia coli* PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO Nº 1 DE JUNI 2008 A JUNIO 2009.....43

Tabla Nº 2. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LA CIPROFLOXACINA EN MUESTRAS DE *Escherichia coli* PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO Nº 1 DE JUNIO 2008 A JUNIO 2009.....45

Tabla Nº 3. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LAS QUINOLONAS SEGÚN LA EDAD DE CEPAS PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSP.OBRERO DURANTE LA GESTIÓN 2008-2009.46

Tabla Nº 4. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LAS QUINOLONAS SEGÚN GENERO DE CEPAS PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO Nº 1 DURANTE LA JUNIO 2008-JUNIO 2009.....48

Tabla Nº 5. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LAS QUINOLONAS SEGÚN EL SERVICIO SOLICITANTE DE CEPAS PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO Nº1 DURANTE JUNIO 2008 HASTA JUNIO 2009.....50

Tabla Nº 6 FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LAS QUINOLONAS EN RELACIÓN A LA SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA OTROS ANTIMICROBIANOS (AMPICILINA, AMOXI-AC. CLAVULANICO, CEFTRIAXONA, CEFALOTINA, COTRIMOXAZOL, AMIKACINA, GENTAMICINA, NITROFURANTOINA,) EN CEPAS DE *Escherichia coli* PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO DURANTE LA JUNIO 2008HASTA JUNIO 2009.....53

Tabla Nº 7. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DE AMOXICILINA – ACIDO CLAVULÁNICO *Escherichia coli* OBTENIDOS EN EL HOSPITAL OBRERO Nº1 DE LA CIUDAD DE LA PAZ DURANTE JUNIO 2008 HASTA JUNIO 2009.....54

Tabla Nº 8. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD A LA AMIKACINA DE *Escherichia coli* OBTENIDOS EN EL HOSPITAL OBRERO Nº1 DE LA CIUDAD DE LA PAZ DURANTE JUNIO 2008 HASTA JUNIO 2009.....55

Tabla Nº 9. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD A LA CEFEPIME DE *Escherichia coli* OBTENIDOS EN EL HOSPITAL OBRERO Nº1 DE LA CIUDAD DE LA PAZ DURANTE JUNIO 2008 HASTA JUNIO 2009.....55



Tabla Nº 10. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD A LA CEFALOTINA DE *Escherichia coli* OBTENIDOS EN EL HOSPITAL OBRERO Nº1 DE LA CIUDAD DE LA PAZ DURANTE JUNIO 2008 HASTA JUNIO 2009.....56

Tabla Nº 11. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD A LA CEFTRIAXONA DE *Escherichia coli* OBTENIDOS EN EL HOSPITAL OBRERO Nº1 DE LA CIUDAD DE LA PAZ DURANTE JUNIO 2008 HASTA JUNIO 2009.....56

Tabla Nº 12. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD A LA COTRIMOXAZOL DE *ESCHERICHIA COLI* OBTENIDOS EN EL HOSPITAL OBRERO Nº1 DE LA CIUDAD DE LA PAZ DURANTE JUNIO 2008 HASTA JUNIO 2009.....57

Tabla Nº 13. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD A LA GENTAMICINA DE *Escherichia coli* OBTENIDOS EN EL HOSPITAL OBRERO Nº1 DE LA CIUDAD DE LA PAZ DURANTE JUNIO 2008 HASTA JUNIO 2009.....58



INDICE DE GRAFICAS

Gráfica N° 1. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA AL ÁCIDO NALIDÍXICO EN MUESTRAS DE *Escherichia coli* PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO N° 1 DE JUNIO 2008 A JUNIO 2009..... 44

Gráfica N° 2. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LA CIPROFLOXACINA EN MUESTRAS DE *Escherichia coli* PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO N° 1 DE JUNIO 2008 A JUNIO 2009.....45

Gráfica N° 3 FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LAS QUINOLONAS SEGÚN LA EDAD DE CEPAS PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSP.OBRERO DURANTE LA GESTIÓN 2008-2009.47

Gráfica N° 4 FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LAS QUINOLONAS SEGÚN GENERO DE CEPAS PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO N° 1 DURANTE LA JUNIO 2008-JUNIO 2009.....48

Gráfica N° 5. FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LAS QUINOLONAS SEGÚN EL SERVICIO SOLICITANTE DE CEPAS PRODUCTORAS DE INFECCIÓN DEL TRACTO URINARIO (I.T.U) EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO N°1 DURANTE JUNIO 2008 HASTA JUNIO 2009.....52



RESUMEN

Con los años, la cartografía de los cromosomas del genoma bacteriano de *Escherichia coli* ha demostrado que muchos loci están asociadas con la resistencia a quinolonas, que es principalmente el resultado de mutaciones cromosómicas o la alteración de la cantidad o el tipo de poros en la membrana externa de la Bacterias Gram-negativas.

El ácido nalidíxico y la Ciprofloxacina son una valiosa y eficaz herramienta en el tratamiento de las infecciones del tracto urinario (ITU). El objetivo de este trabajo es el análisis descriptivo de la resistencia antibiótica al Ácido Nalidíxico a la Ciprofloxacina de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos solicitados en el Servicio de bacteriología del Hospital Obrero N° 1 de muestras de urocultivo.

El germen aislado fue *Escherichia coli* durante el período junio 2008 y junio 2009, de todas las muestras solicitadas en el Servicio de bacteriología, de éstos se seleccionaron todas las cepas de *Escherichia coli* con resistencia, a las quinolonas. Con la información obtenida se determinaron la sensibilidad disminuida a quinolonas. Fueron recolectados 5097 urocultivos de los diferentes Servicio del Hospital Obrero N° 1, de los cuales 3694 (72,42 %) con relación al ácido Nalidíxico, 3238 (63,53 %) con relación a la Ciprofloxacina demuestran una sensibilidad disminuida elevada.



DIDICATORIA

A mis queridos padres que son mi apoyo incondicional que siempre están a mi lado, guiando mis pasos para ser mejor cada día.



AGADECIMIENTO

- *A mi Dios por guiar mis pasos por darme salud por estar siempre conmigo en cada momento de mi vida.*
- *A mis Padres Roberto y Flora por el apoyo que me brindan por estar conmigo en las buenas y las malas por impúlsame siempre para cumplir mis metas.*
- *A mis hermanos que me apoyaron emocionalmente en los momentos difíciles.*
- *Al Dr. Juan Callisaya por compartir sus conocimientos, por tener el interés de que nos superemos día con día.*
- *Finalmente a todos mis amigos que me colaboraron para la realización de este trabajo.*



1 INTRODUCCIÒN

1.1 ANTECEDENTES

La resistencia bacteriana se define como una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico.¹

A principios de la década de los años 90 era infrecuente hallar resistencia a las fluoroquinolonas en los aislamientos clínicos de *Escherichia coli* pero, desde entonces, su frecuencia se incrementó en todo el mundo y se informó que en el Reino Unido, entre 1991 y 1996, más del 90% de los aislamientos mostraban un elevado nivel de resistencia a la ciprofloxacina. Sin embargo, se observó resistencia al ácido nalidíxico junto con una menor sensibilidad a ciprofloxacina.¹

En un estudio realizado se analizaron las cepas de *Escherichia coli*, aisladas de los hemocultivos que reportó el laboratorio de microbiología del 1 de enero de 1990 al 31 diciembre del 2007. El estudio fue retrospectivo de todos los pacientes con bactericemia por *Escherichia coli* de los últimos siete años. Se analizaron sus características demográficas, foco de origen, enfermedades subyacentes, tratamiento antimicrobiano y evolución. Se compararon los casos que causó *Escherichia coli* resistente a quinolonas con los de *Escherichia coli* susceptible a éstas. En donde se reportó que la resistencia a la ciprofloxacina aumentó de forma progresiva hasta llegar al 53%. En los 50 casos estudiados predominó el sexo femenino, los mayores de 65 años de edad y sin enfermedad subyacente; la mayoría de los pacientes eran ambulatorios. En 26 (52%) casos *Escherichia coli* fue resistente a la ciprofloxacina y no se encontraron diferencias significativas al

¹ ROSS, Alicia y otros. "Vigilancia de la resistencia a los antibacterianos". Salud publica panamericana. 1999. 4 v.2. marzo-abril, Pag. 234



compararlos con pacientes con *Escherichia coli* susceptible a la quinolona.²

En Bolivia se realiza monitoreos de la resistencia a antimicrobianos desde 1999 – 2008 este monitoreo se realiza cada año; en la gestión 1999 se realizó aislamientos comunitarios de *Escherichia coli* uropatógeno mostro al Acido nalidíxico un 17.3 y a ciprofloxacina 16% pero la resistencia va aumentando cada año en el 2008 nuestra un incremento de la resistencia a las quinolonas de 54% al acido nalidíxico y a la ciprofloxacina un 45% este aumento es de suma preocupación para todos los pacientes con ITU.³

Cada día se están describiendo con mayor frecuencia tasas elevadas de resistencia antimicrobiana. Como ejemplo, podemos citar lo comunicado con respecto al Cotrimoxazol, cuya resistencia sobrepasa el 20% en algunas regiones de EEUU y el 45% en algunos países de Latinoamérica. Las fluoroquinolonas no escapan a esta situación. El Ciprofloxacino es una valiosa y eficaz herramienta en el tratamiento de las infecciones del tracto urinario

(ITU).

Hoy en día su uso parece indiscriminado, dejando de lado tratamientos antibióticos de primera línea, igualmente eficaces. La prevalencia de *Escherichia coli* resistentes a Ciprofloxacino supera el 40% en niños con gastroenteritis de la región de Cataluña en España. Karlowsky, por su parte, describe un incremento

² DRS. MORENO S, LAZO D, “Servicio de Urología”. Hospital Dr. Sóte, del Río. Chile

³ Esther D. Gualberto L. Elizabeth T. Monitoreo de resistencia. INLASA, 2008



de tres veces la cifra nacional americana de resistencia antibiótica a Ciprofloxacino en los urocultivos de mujeres con ITU tratada ambulatoriamente ⁴

. La resistencia bacteriana obliga al desarrollo y utilización de nuevos antibacterianos, que son más costosos y a veces más tóxicos que los empleados habitualmente

Cuando se comercializa al mercado un fármaco antibacteriano, se define el espectro de microorganismos sobre los cuales es eficaz, pero luego este patrón va cambiando a medida que la droga se utiliza clínicamente, llegando en algunos casos a caer en el desuso.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Cada día se están describiendo con mayor frecuencia tasas elevadas de resistencia antimicrobiana. Cuya resistencia a las quinolonas (Acido Nalidíxico o Acido pipemidico) sobrepasa el 45% en pacientes con ITU. Las otras fluoroquinolonas no se excluyen de esta situación. La Ciprofloxacina es una valiosa y eficaz en el tratamiento de las infecciones del tracto urinario (ITU). Hoy en día su uso parece indiscriminado, dejando de lado tratamientos antibióticos de primera línea, igualmente eficaces.

⁴ . *Paulina González Morales* " mecanismo de resistencia", UDLA Puebla. México 2º Ed. Pag. 377–378



La prevalencia de *Escherichia coli* resistente a Ciprofloxacina supera el 40% en niños con gastroenteritis en los urocultivos tratadas ambulatoriamente, por esta razón los laboratorios de Microbiología deben alertar de esta sensibilidad disminuida a las quinolonas en cepas de *Escherichia coli* que es uno de los microorganismos que causa las infecciones urinarias.

Diversos estudios demostraron que el uso clínico de fluoroquinolonas es un factor de riesgo importante para la emergencia de resistencia en el ámbito hospitalario y que la administración previa de ciprofloxacina es un factor de riesgo significativo para el aislamiento de *Escherichia coli* resistentes a ciprofloxacina en pacientes internados. Se describió la aparición de resistencia a las fluoroquinolonas durante el tratamiento de infecciones por *Escherichia coli* que se asoció con fracaso terapéutico.

1.3 JUSTIFICACION

En este trabajo lo que se pretende demostrar es la resistencia bacteriana a las quinolonas, que es un tema muy importante en el estudio de los antibióticos, porque su comprobación implica la forma como se aplicara la terapia, la



resistencia antibiótica por parte de los microorganismos está relacionada con el uso extensivo y muchas veces indiscriminado de los antibióticos.

La investigación propuesta busca , mediante la revisión teórica de los mecanismos de resistencia , los métodos de detección de factores de resistencia , el conocimiento de los antimicrobianos y la cadena epidemiológica; encontrar explicaciones a situaciones de multirresistencia de *Escherichia coli* a las quinolonas.

De acuerdo con los objetivos de la investigación, su resultado permitirá encontrar soluciones concretas y la elección de antimicrobianos de primera línea y alternativos para el tratamiento de las infecciones urinarias causadas por *Escherichia coli*.

Dicha investigación se basa en la aparición de cepas de *Escherichia coli* resistentes a las quinolonas. Tal efecto es lo que se quiere demostrar con este trabajo. Lamentablemente, el uso de quinolonas en los hospitales es creciente y exagerado, con el consiguiente riesgo de aumentar la aparición de cepas resistentes.



1.4 MARCO TEORICO

1.4.1 CONCEPTO

Las Quinolonas poseen una estructura común: la 4-oxo-1,4dihidroquinoleína de la cual derivan las quinolonas fluoradas y no fluoradas.

Su núcleo central es el 7- piperazino4- quinolona, al que incorporándole uno, dos o tres átomos de flúor en su molécula, da lugar a las llamadas 4-fluorquinolonas.

(ANEXO 1)

Las mayores ventajas conseguidas en cuanto a la actividad y el espectro de la molécula se deben a la incorporación de un átomo de flúor en posición C6 y el grupo piperacínico heterocíclico en el C 7, que aumentan la actividad antibacteriana y su espectro frente a bacterias grampositivas, Pseudomonas, Enterobacterias.

Durante los años ochentas, se introdujo un átomo de flúor en la posición 6 y un anillo de piperazina en el carbono 7, originándose nuevas estructuras (ciprofloxacina, ofloxacina, norfloxacina, etc.), las cuales presentaron mejoras tanto en actividad biológica como en propiedades farmacocinéticas (buena absorción oral y amplia distribución tisular); convirtiendo a esta generación de quinolonas en fármacos de primera línea frente a numerosas infecciones y constituyendo un nuevo grupo de agentes antimicrobianos llamados piperazinil fluoroquinolonas o simplemente fluoroquinolonas.



El sustituyente flúor en el C-6 incrementó tanto la penetración celular (1 a 70 veces) como la inhibición a la ADN girasa (2 a 17 veces) con respecto a los análogos no sustituidos en C-6 siendo considerado un grupo óptimo. El sustituyente en el C-7 también influye en la actividad inhibitoria de la ADN girasa; la potencia, la solubilidad y otras propiedades fisicoquímicas.⁵

1.4.2 ACIDO NADILIXICO

El ácido nalidíxico fue la primera quinolona utilizada clínicamente, a principios de los años 60, mostrando actividad contra la mayoría de las bacterias Gram negativas causantes de infección urinaria, siendo ligeramente activo contra bacterias Gram positivas y Pseudomonas; teniendo una vida útil muy reducida debido al incremento de resistencia.

Más tarde, modificaciones en su estructura produjeron compuestos tales como: el ácido oxolínico, el ácido ipemídico y la cinoxacina, los cuales representan a las quinolonas de la primera generación que, aunque superaban algunas de las limitaciones del ácido nalidíxico, seguían siendo antimicrobianos para infecciones de las vías urinarias (ANEXO 1)

⁵ Dra. Mariela Vacarezza "quinolonas". NA. 2000;Pag 70-73



1.4.3 FLUROQUINOLONAS

Las quinolonas son agentes antimicrobianos de síntesis química, cuyo principal mecanismo de acción es la inhibición de las enzimas DNA girasa y topoisomerasa IV. Las fluoroquinolonas, también llamadas 4-quinolonas o ácidos carboxílico-quinolona son análogas del ácido nalidíxico, el primer agente antibacteriano desarrollado de esta familia de antibióticos. Se consideran una clase relativamente nueva de antimicrobianos de amplio y potente espectro de acción. En comparación con el ácido nalidíxico, las nuevas fluoroquinolonas han mejorado las propiedades farmacocinéticas, incluyendo una mayor absorción oral, un incremento de la concentración máxima en el suero, concentraciones mayores en los tejidos y tiempos más largos de vida media. Las reacciones adversas asociadas al uso de las fluoroquinolonas afectan principalmente al sistema gastrointestinal, la piel y el sistema nervioso central.⁶

⁶ Socorro Leyva y Elisa Leyva Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí S.L.P.



1.4.4 CLASIFICACIÓN

1.4.4.1 Estructura química

No fluoradas o de Primera Generación	Ácido nalidíxico Ácido oxolínico cinoxacino
Fluoradas de segunda generación	Norfloxacino Pefloxacino Ofloxacino Enoxacino Ciprofloxacino
Fluoradas de tercera generación	Difloxacino Lomefloxacino Esparfloxacino
Fluoradas de cuarta generación	Levofloxacino Moxifloxacino Cinafloxacino

Figura .1 Clasificación de las quinolonas

Quinolonas de primera generación, sensibles a bacterias gramnegativas (*Escherichia coli*, Proteus, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Salmonela, Shigella) excepto pseudomonas.

La segunda generación de quinolonas, entre las que se incluye la ciprofloxacina, ha aumentado la actividad frente a bacterias Gram negativas, así como frente a algunas Gram positivas y patógenos atípicos. Comparados con los de primera generación, estos agentes tienen una aplicación clínica más amplia en el



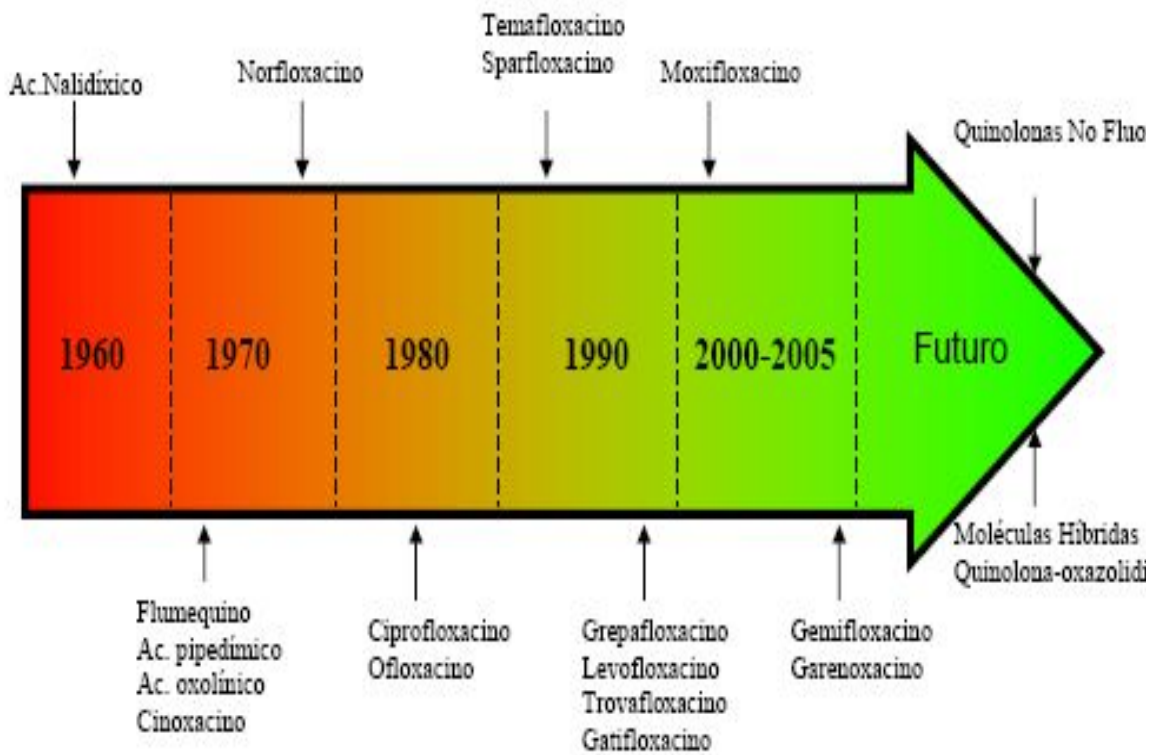
tratamiento de infecciones del tracto urinario y de pielonefritis, enfermedades de transmisión sexual, ciertas neumonías e infecciones de la piel.

Aunque esta segunda generación de antibióticos se ha utilizado en el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio inferior y sinusitis aguda, se ha comprobado *Escherichia coli* es habitualmente resistente a estos agentes. Consecuentemente, la segunda generación de quinolonas no es la mejor opción para el tratamiento de este tipo de enfermedades.

La tercera generación de quinolonas incluye la levofloxacin, gatifloxacin, moxifloxacin y esparfloxacin. Éstas tienen una mayor actividad frente a organismos Gram positivos, particularmente frente a neumococos sensibles y resistentes a penicilina. Pese a ello, son menos activas que la ciprofloxacina frente a especies de *Pseudomonas*. Son quinolonas útiles en el tratamiento de neumonías adquiridas en el ambiente extrahospitalario y sinusitis aguda, entre otras enfermedades.

Cuarta generación de quinolonas, constituida por el antibiótico trovafloxacin, que añade una actividad antimicrobiana frente a anaerobios, mientras que mantiene la actividad de las quinolonas de tercera generación frente a Gram positivos y Gram negativos (ANEXO 2)

Figura 2: Cronología de la aparición de moléculas de quinolona



1.4.4.2 DIANAS PRINCIPALES DE LAS FLUOROQUINOLONAS

Las fluoroquinolonas interfieren en el metabolismo bacteriano del DNA por la inhibición de dos topoisomerasas (DNA girasa y topoisomerasa IV). Las topoisomerasas son enzimas que controlan y modifican la topología del DNA en las células. (ANEXO 3).

La enzima DNA girasa es una topoisomerasa de tipo II que cataliza el superenrollamiento negativo del DNA procariótico, utilizando la energía libre liberada por la hidrólisis del ATP. Así pues, la DNA girasa introduce superenrollamientos en la doble hélice dando lugar a la estructura tridimensional



altamente condensada del DNA. La función de la topoisomerasa IV es poco conocida aunque se sabe que, a diferencia de la DNA girasa, es una enzima incapaz de catalizar el superenrollamiento del DNA pero sí de controlar su relajación. Ambas enzimas presentan una gran homología en las secuencias y son estructuralmente muy parecidas. Tanto la DNA girasa como la topoisomerasa IV son proteínas tetraméricas constituidas por dos subunidades. La DNA girasa está constituida por las subunidades GyrA y GyrB y la topoisomerasa IV por las subunidades ParC y ParE. La proteína ParC es homóloga a la proteína GyrA, mientras que la subunidad ParE es homóloga a la subunidad GyrB.

Estas enzimas, dependiendo del tipo de bacteria, representan la diana principal o secundaria de la acción antimicrobiana de las quinolonas. La DNA girasa es la diana principal de las fluoroquinolonas en las bacterias Gram negativas, mientras que la topoisomerasa IV parece ser la diana principal de muchas fluoroquinolonas en las bacterias Gram positivas.

1.4.5 RELACIÓN ENTRE ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD

Las distintas quinolonas comparten un esqueleto común, que determina su actividad antimicrobiana, así como la naturaleza de los sustituyentes periféricos y su relación espacial que muestran los lugares que determinan la relación entre la estructura química y la actividad de las quinolonas (ANEXO 1d – 3a/b)



Los grupos carboxílico (C-3) y carbonilo (C-4) son esenciales para la actividad bactericida, porque median la unión del complejo DNA-DNA girasa. En cuanto a la presencia de un átomo de flúor en la posición C-6 parece ser que está asociada a una mayor potencia antibacteriana respecto a otros sustituyentes como H, Cl, Br, COCH₃, CN o NO₂. En concreto, se le atribuye un aumento de la inhibición de la DNA girasa y una mayor penetración en la célula. Sin embargo, no se ha observado una correlación entre la concentración de quinolona acumulada intracelularmente y el número de átomos de flúor del núcleo de la quinolona (mono, di o trifluorada).

En la posición C-7 de la molécula los sustituyentes pequeños tienen una moderada actividad biológica, mientras que aquellas quinolonas que tienen un anillo heterocíclico en esta posición presentan una mayor actividad antibacteriana. Por último, se ha demostrado que la potencia antibacteriana está enormemente influida por el sustituyente en la posición N- los cationes divalentes o trivalentes pueden alterar la absorción de todas las fluoroquinolonas.⁷ (ANEXO 3)

⁷ Fernandez M., Prevención de la resistencia a los Antimicrobianos en las Américas .Artículo presentado en la reunión de la Organización Panamericana de la Salud en Asunción Paraguay .Enero 1999.



1.4.6 MECANISMO DE ACCION DE LAS QUINOLONAS

Los pasos secuenciales de la acción antibacteriana de una quinolona se resumen en:

- 1) Paso del antibiótico a través de las envueltas celulares de la bacteria hasta alcanzar el citoplasma.
- 2) Inhibición de al menos una de las enzimas diana de las quinolonas: DNA girasa y/o topoisomerasa IV.
- 3) Inhibición de la síntesis replicativa del DNA.
- 4) Inducción de otros efectos en la estructura celular y respuesta bioquímica.
(ANEXO 4).

Las quinolonas son antibióticos cuyo blanco primario son la ADN girasa en organismos Gram negativos y la topoisomerasa IV en organismos Gram positivos. La ADN girasa es un heterotetramero A₂B₂ (ANEXO 4) con la subunidad A (Gyr A, 97kDa) como responsable del enrollamiento del ADN, ruptura y reunión de ADN; y la subunidad B (Gyr B, 90kDa) como la encargada de la hidrólisis de ATP y de la interacción con Gyr A y ATP. La ADN girasa introduce superenrollamientos negativos en el ADN y libera la tensión torsional acumulada por los procesos de replicación y transcripción; mientras que la topoisomerasa IV presenta una potente actividad



Ambas enzimas son esenciales para la replicación y transcripción del ADN donde la inhibición de estas funciones conduce a una muerte celular. La inhibición de la ADN girasa puede categorizarse dentro de los cinco tipos siguientes:

- Mecanismo específico basado en la inhibición de la Gyr A.
- Mecanismo específico basado en la inhibición de la Gyr B,
- Intercalación en el ADN.
- Unión al hueco menor del ADN.
- Muerte celular

La enzima ADN girasa actúa a través del enrollamiento de la doble cadena del ADN alrededor de sí mismo, ruptura del ADN en las dos hebras con la formación de un segmento de apertura a través del cual se pasa el ADN sin cortar y finalmente reunión del ADN.

La unión de ATP a Gyr B captura el segmento de ADN sin cortar y lo dirige a través de la apertura, seguido por la hidrólisis de ATP para permitir que la enzima regrese a su conformación inicial. En un ciclo de reacción de superenrollamiento, la ADN girasa une e hidroliza dos moléculas de ATP, con una velocidad intrínseca de hidrólisis de ATP generalmente baja, donde la actividad de ATPasa es estimulada por la presencia de ADN. Las moléculas de quinolona, unidas en complejos tetraméricos, se acoplan a las hebras de ADN y a determinados puntos de las subunidades (A y B) de la girasa y estabilizan el complejo ternario de girasa



ADN-fluoroquinolona-ADN, impidiendo su reversión y poniendo en marcha una serie de procesos, incluso hoy todavía desconocidos, que desembocan en la lisis celular.⁸

Existen estudios estructurales para explicar la acción de las quinolonas, donde se propone que se requiere una interacción directa entre la quinolona y el ADN de cadena doble o sencilla. Uno de los modelos sugiere que el Mg^{2+} juega un papel importante en la unión de la quinolona al complejo ADN-girasa, existiendo una interacción electrostática y/o covalente entre el ion Mg^{2+} y una molécula de quinolona junto con los grupos fosfato y las bases del ADN. En otros estudios, se sugiere también la presencia de puentes de hidrógeno y/o atracciones electrostáticas entre el flúor del C-6 y el sustituyente del C-7 de la quinolona y el receptor o enzima particularmente en algunos aminoácidos como serina 83 y/o ácido aspártico 87. También se propone este tipo de interacciones con los grupos fosfatos del ADN. (ANEXO 8)

Además existen interacciones de apilamiento p-p e interacciones hidrofóbicas entre los núcleos heterocíclicos de las quinolonas.

⁸ Yoshida, H., Bogaki, M., Nakamura, M., Nakamura, S. Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrA* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1271-1272.



En la literatura se reporta que hay una relación entre la constante de asociación del complejo ternario ADN-quinolona- Mg^{2+} y la actividad tóxica de la girasa. Los autores no sugieren un modelo estructural para el complejo ternario, indicando que los datos obtenidos no muestran un mecanismo de acción basado en una intercalación por parte de la fluoroquinolona dentro del ADN.

1.4.7 MECANISMOS DE RESISTENCIA DE MICROORGANISMOS A

QUINOLONAS FLUORADAS

Las mejoras tanto en actividad biológica como en propiedades farmacocinéticas aportadas por modificaciones en la estructura del ácido nalidíxico, convirtieron a la segunda generación de quinolonas (Ciprofloxacina, ofloxacina, etc) en fármacos de primera línea frente a numerosas infecciones. Sin embargo, su amplio espectro, gran actividad y buena tolerabilidad propiciaron una amplia difusión de su uso, originándose la aparición de resistencia tanto en microorganismos Gram negativos, especialmente en *Pseudomonas aeruginosa* o *Escherichia coli* y en microorganismos Gram positivos como *Staphylococcus aureus*.

Un punto clave en la resistencia hacia la acción de fluoroquinolonas está relacionado con la ADN girasa, particularmente en su subunidad A. Mutaciones en los genes codificadores de las subunidades A de la girasa o, en menor medida, del área clave de unión en las subunidades B, alteran su estructura y disminuyen su afinidad con el fármaco. De este modo, serán necesarias mayores



concentraciones de fármaco para conseguir un mismo efecto sobre la bacteria. La resistencia a quinolonas en microorganismos Gram negativos está básicamente vinculada a determinadas mutaciones en el gen Gyr A, que codifica la subunidad A de la girasa en un área conocida como QRDR (región determinante de resistencia a la quinolona). Aunque se han descrito numerosas mutaciones con diferente repercusión en la disminución de la sensibilidad a las quinolonas, hay dos mutaciones básicas implicadas en la resistencia: serina 83 por triptófano y ácido aspártico 87 por asparagina en *Escherichia coli*, o en las posiciones equivalentes en otros microorganismos. En cepas con alto grado de resistencia se ha observado que se tienen mutaciones en otros puntos de Gyr A, adicionales a las mutaciones iniciales (Ser- 83 y Asp-87), en diversas posiciones en la topoisomerasa IV (básicamente en Ser-80 y Glu-84) o con frecuencia en ambas localizaciones.

Las mutaciones en las subunidades B aparecen con frecuencia relativamente bajas en cepas clínicas, originando además incrementos de resistencia moderados.⁹

Una posible explicación de la sensibilidad hacia la quinolona puede ser que las mutaciones cambian la conformación de QRDR indirectamente a través de la cadena de péptidos o a través de efectos en el ciclo de reacción de la enzima,

⁹ Wiedemann, B. & Heisig, P. (1994). Mecanismos de la quinolona resistencia. *Infección* 22, Supl. 2, S73-9.



existiendo también la posibilidad de que estos residuos de Gyr B estén directamente involucrados en la cavidad de unión de la quinolona, incluyendo también la región de QRDR de Gyr A.

No obstante, cada vez se da más importancia a la presencia de un mecanismo de flujo activo capaz de expulsar el antimicrobiano de la célula bacteriana, impidiéndose de este modo alcanzar las concentraciones suficientes para dañar irreversiblemente su ADN. Se ha demostrado como un mecanismo de gran importancia en microorganismos Gram positivos que afecta de forma muy distinta a diversas fluoroquinolonas, en función de su grado de hidrofobicidad o de su estructura molecular.

Los principales mecanismos de resistencia en microorganismos son cinco: alteración de la Gyr A, alteración de la Gyr B, alteración de la topoisomerasa IV, dificultad de paso del antibiótico a través de la pared bacteriana y exceso de salida por alteración de los mecanismos de flujo externo. Todos ellos, por mutaciones de los distintos genes que codifican la estructura o función correspondiente, que reciben el nombre de la estructura modificada, o de los selectores con que se han detectado (Gyr A, Gyr B, parC y parE para las topoisomerasas; norC, nalB, nalD, nfxB, nfxC, marA y sox para las alteraciones de las proteínas de membrana externa como ompF y ompC; y mexA, mexB, mexC, mexD, oprK, oprM y norA para las alteraciones en el flujo externo).



La mayoría de las resistencias a ciertos microorganismos, *Escherichia coli*, se deben a alteraciones de la Gyr A, siendo secundarios los otros mecanismos, aunque pueden coexistir más de uno y ser múltiples. En el caso de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* son más importantes las alteraciones en la topoisomerasa IV, mientras que para *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Campylobacter jejuni* también es importante un aumento del flujo externo

Las quinolonas actúan en el interior de la bacteria, penetrando a través del canal acuoso de las porinas. Son los únicos agentes antibacterianos que ejercen su actividad bactericida uniéndose a topoisomerasas bacterianas e inhibiéndolas; aunque éste no sería el único mecanismo de acción.

Las topoisomerasas son enzimas que controlan el superenrollamiento y desenrollamiento del ADN bacteriano. El superenrollamiento permite a la larga molécula de ADN empaquetarse dentro de célula bacteriana. Esta estructura debe ser desenrollada para permitir diferentes funciones como replicación, transcripción y reparación del ADN. La inhibición de la actividad de estas enzimas impide a la célula bacteriana producir las proteínas necesarias para su reparación, crecimiento y reproducción. Una inhibición prolongada conduciría así a la muerte de la célula.



Existen 4 tipos de topoisomerasas. Las quinolonas actuarían a nivel de ADN-girasa (también llamada topoisomerasa tipo II) y de la topoisomerasa tipo IV. No actúan a nivel de las topoisomerasas I y III.

La compleja interacción de las quinolonas con las topoisomerasas es la base del diferente espectro antibacteriano de las quinolonas y también de la selección de cepas resistentes. La actividad de las quinolonas contra las bacterias grampositivas se debe a su acción "blanco" en las topoisomerasas IV, en cambio la actividad contra las bacterias gramnegativas es por su acción "blanco" en las topoisomerasa II o ADN-girasa. (ANEXO 5)

Las bacterias resistentes a las quinolonas aparecen en clínica como resultado de la terapia con estos agentes. Su efecto citotóxico depende de que penetren a través de la membrana bacteriana y alcancen su diana celular (DNA girasa o topoisomerasa IV) para inducir la muerte de la célula. En principio, las resistencias a las quinolonas pueden deberse a mutaciones que afecten cualquier paso de este proceso. Así, (ANEXO 5) los mecanismos de resistencia bacteriana a las quinolonas pueden agruparse en tres categorías:

1. Resistencias de tipo cromosómico
2. Resistencias por alteraciones en la membrana externa bacteriana
3. Resistencias basadas en la expulsión



- 1) Resistencias de tipo cromosómico que dan lugar a mutaciones en segmentos definidos de los genes que codifican la DNA girasa (especialmente en la subunidad A) y la topoisomerasa IV, dando lugar a las QRDR (región determinante de resistencia a la quinolona)

- 2) Resistencias por alteraciones en la membrana externa bacteriana que disminuyen la penetración intracelular del fármaco. Estas modificaciones se originan en alteraciones de los genes que codifican los canales de las porinas, lo que impide la entrada del quimioterápico en la bacteria. Resistencias basadas en la expulsión.

- 3) Resistencias basadas en la expulsión del antibacteriano desde el medio intracelular al extracelular por acción de transportadores endógenos activos. ¹⁰

1.4.8 ENZIMAS BACTERIANAS CAPACES DE DEGRADAR O INACTIVAR A LAS QUINOLONAS

Los estudios centrados en *Escherichia coli*, demostraron que la resistencia a las quinolonas se produce normalmente por mutaciones en regiones definidas de las

¹⁰ Drlica, K. & Zhao, X. La ADN-girasa, la topoisomerasa IV, y el 4-quinolonas. Microbiología y Biología Molecular Comentarios 61, 377-92. . (1997).



proteínas GyrA o GyrB . Las mutaciones en las regiones equivalentes de las proteínas ParC o ParE tienen lugar tras las acontecidas en la girasa, y producen, en general, altos grados de resistencia a estos fármacos. Por ello se identificó la girasa como principal diana de las quinolonas. El dominio de la proteína GyrA de *Escherichia coli* (GyrA59K) cristaliza como dímero, y es el mínimo fragmento de la subunidad A que al unirse con la subunidad B presenta actividad DNA. Cada monómero GyrA está compuesto por una cabeza N-proximal y una cola C-proximal. La proteína GyrA compuesta por las hélices α_3 y α_4 , que adopta diferentes conformaciones para permitir la apertura y el cierre de lugares determinados por los que debe pasar el DNA. Se cree que la girasa interactúa con el DNA a través de la hélice α_4 . Un detalle importante es que las zonas en que se producen las mutaciones frente a las quinolonas en la proteína GyrA (residuos 67, 81, 83 y 87) se sitúan cerca de la región de rotura-reunión de esta proteína y de la tirosina activa (Tyr-122), lo que confirma que las quinolonas interactúan con el complejo girasa-DNA

Las mutaciones QRDR en la girasa o la topoisomerasa IV no son los únicos mecanismos que desarrollan los microorganismos frente a la acción de los agentes antibacterianos, pues las resistencias a las quinolonas pueden estar condicionadas también por los procesos de transporte a través de la membrana. Así, el papel fundamental que ejercen los canales de las porinas en la difusión de las quinolonas hidrofílicas a través de la membrana externa de las bacterias gramnegativas quedó respaldado por la observación de que numerosos mutantes Mar, que mostraban resistencias a estos agentes tenían en común la reducción



del número de OmpF, la principal y mayor proteína de las porinas de la membrana externa de *Escherichia coli* . Ello sugiere que las quinolonas hidrofílicas deben entrar en la célula bacteriana, al menos en parte, a través del canal de la porina OmpF.(ANEXO 10)

1.4.9 CEPAS MUTANTES MAR DE *Escherichia coli*

Estas cepas mutantes Mar de *Escherichia coli* expresan resistencias codificadas por cromosomas frente a una gran variedad de antibióticos hidrofóbicos e hidrofílicos estructuralmente no relacionados. Entre los cambios que presentan estos mutantes Mar en la membrana externa destaca la importante reducción de la porina OmpF. Estas observaciones implican que la reducción de OmpF requiere mutaciones en la región génica marA , es decir, que mutaciones en el locus marA confieren resistencia a varios grupos de antibióticos, entre ellos las quinolonas, por un mecanismo que reduce la permeabilidad al disminuir la expresión de la OmpF. Las mutaciones que afectan a la permeabilidad confieren bajos grados de resistencia a las quinolonas y producen habitualmente resistencias cruzadas con otros antibióticos estructuralmente no relacionados.(ANEXO 6)

Como norma general se considera que un tamaño voluminoso, la carga negativa y un aumento de la hidrofobicidad retrasan la penetración de los antibacterianos en los microorganismos gramnegativas a través de los canales de las porinas.



Por otro lado, las moléculas hidrofóbicas parecen utilizar una ruta alternativa de difusión a través de lipopolisacáridos, mientras que el elevado peso molecular es un factor limitante sólo para los microorganismos gramnegativos.

Posteriormente se conoció la implicación en la resistencia a las quinolonas del tercer mecanismo señalado: la bomba de expulsión activa.

Las quinolonas son sustratos de este transportador que actúa extrayendo el fármaco desde el medio intracelular al extracelular e impide así la acumulación. El sistema de expulsión se sitúa en la membrana interna de los microorganismos y cataliza un proceso dependiente de energía ligado a un gradiente de protones

1.4.10 SISTEMA DE TRANSPORTE EN *Escherichia coli*

En *Escherichia coli* este sistema de transporte, denominado AcrAB, es una bomba de flujo multifármaco que extrae de la célula una amplia variedad de antibióticos, incluidas las quinolonas y otras sustancias. Este sistema AcrAB está compuesto por el transportador AcrB y la proteína periplásmica accesoria AcrA. Se cree que AcrA, de forma alargada, aproxima las membranas externa e interna, formando un trímero que interacciona con el monómero AcrB, bombeando así una amplia variedad de sustancias, presumiblemente a través del canal TolC de la membrana externa.



El sistema AcrAB está codificado por los genes *acrAB* y parece tener una función fisiológica en *E. coli*, que consiste en proteger a la célula frente a sales biliares y ácidos grasos, tóxicos habituales de su entorno fisiológico. Es importante destacar que la expresión de los genes *acrAB* aumenta de forma considerable en los mutantes *Mar*, lo que implica que el locus *MarA* de *E. coli* regula no sólo la expresión de la porina *OmpF*, sino también la expresión de la bomba *AcrAB*. Es decir, los mutantes *Mar* presentan resistencias debido a una disminución de la permeabilidad de la membrana externa y a una importante expulsión activa a través de la membrana interna, lo que repercute en una disminución de la entrada del fármaco y un aumento de su salida, y como consecuencia una disminución de la sensibilidad a éste. (ANEXO 7).¹¹

1.4.11 LA ADN-GIRASA, LA TOPOISOMERASA IV Y EL 4-QUINOLONAS.

Durante muchos años, la ADN-girasa se pensaba que era responsable tanto de la hiza de desvincular los cromosomas replicados y para el control de la tensión superhelicoidal negativos en el ADN bacteriano. Sin embargo, en 1990 un homologo de la girasa, la topoisomerasa IV, que tenía una actividad antimicrobiana potente. Ahora está claro que la topoisomerasa IV, en lugar de la girasa, es responsable de la decadencia de cromosomas entrelazados. Por otra parte, la topoisomerasa IV es una blanco de la 4-quinolonas, los agentes

¹¹ Socorro Leyva y Elisa Leyva Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.



antibacterianos que se había pensado anteriormente sólo estén dirigidos a la girasa. El acontecimiento clave en la acción de las quinolonas es reversible captura de ADN-girasa y la topoisomerasa-complejos de ADN. La formación de complejos con la girasa es seguida por una inhibición rápida y reversible de la síntesis de ADN, el cese del crecimiento, y la inducción de la respuesta SOS. En concentraciones más altas de drogas, la muerte celular se produce como roturas de doble cadena de ADN, se liberan de la girasa atrapados y/o complejos de la topoisomerasa IV. Reparación de las quinolonas inducida por el daño del ADN se produce principalmente a través de las vías de recombinación. En muchas bacterias gram-negativas, la resistencia a niveles moderados de las quinolonas se debe a la mutación de la proteína A-girasa y la resistencia a altos niveles de quinolonas se debe a la mutación de un girasa secundaria y/o sitio de la topoisomerasa IV. Para algunas bacterias gram-positivas, la situación es inversa: la resistencia primaria se produce a través de cambios en la topoisomerasa IV, mientras que los cambios girasa dar resistencia adicional.. La girasa es también atrapada en el ADN de productos de los genes letales de algunos grandes plásmidos de bajo número de copia. Así, la biología de la topoisomerasa-quinolona es proporcionar un modelo para la comprensión de los aspectos de las interacciones huésped-parásito y proporcionando medios para investigar la manipulación del cromosoma bacteriano por topoisomerasas. (ANEXO 6)

El cromosoma de *Escherichia coli* se compone de doble círculo de ADN de cadena superior a 1000 micras de longitud. Con el fin de que se incluiría en una célula



bacteriana que es sólo las 1-3 micras de largo, el ADN cromosómico se somete a ter - plegado Terciario y compactación para reducir su volumen.

La formación de complejos inhibe reversiblemente la ADN y el crecimiento celular y se cree que es responsable de la acción bacteriostática de las quinolonas.

1.4.12 EL PAPEL DE LA *ESCHERICHIA coli* EN LA INFECCIÓN

URINARIA

La *Escherichia coli* puede llegar al árbol urinario transportada por la circulación desde algún foco infeccioso distante; esta infección se ha producido por vía descendente. Si los gérmenes llegan a la vejiga directamente a través de la uretra, la infección se ha producido por vía ascendente. Hoy día se acepta esta última vía como la más frecuente y tiene más significado en la patogenia de las cistitis en las mujeres, pasando bacterias desde la vagina a la uretra y vejiga. En las infecciones asociadas a problemas urológicos en los cuales se han realizado procedimientos diagnósticos o terapéuticos, la incidencia de la *Escherichia coli* decrece relativamente en favor de cepas de *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomona* u otras de más difícil manejo.

Este tipo de infección se produce también por vía ascendente o inoculación directa.



Estos últimos gérmenes tienen gran importancia pues son difíciles de erradicar por la resistencia que pueden presentar a los antibióticos, así como su capacidad de mutar su sensibilidad. La dualidad de gérmenes la encontramos en una proporción de 12,9%, pudiendo haber asociación de diferentes bacilos.

También es frecuente que de un examen de urocultivo a otro cambien los microorganismos, y en algunas oportunidades, aunque persista el mismo germen, éste puede presentar características diferentes, en especial en su sensibilidad a los antibióticos.

La razón por la cual las mujeres son tanto más propensas a esta patología se debe a la situación anatómica de la zona urogenital, con una uretra más corta que permite fácilmente la ascensión de gérmenes. Además de lo anterior, las relaciones sexuales y los embarazos aumentan el riesgo de que se produzca este mecanismo de infección. También hay que tomar en cuenta el uso de artefactos anticonceptivos y de espermicidas.

La acidez de la vagina mantenida a través de los lactobacilos -flora bacteriana normal- contribuye también a evitar que se desarrolle la *Escherichia coli* a este nivel.

Con respecto de las bacterias, se ha confirmado en investigaciones más o menos recientes, que éstas se adhieren al epitelio a través de sus filamentos o fimbrias.



Éstas, que tienen especiales antígenos, inducen un proceso reactivo de defensa celular (macrófagos) y general (IgA).

En esta lucha microbiológica hay desequilibrios que permiten a veces la mantención de las cepas en la mucosa con la persistencia de la patología. Los filamentos o fimbrias de la *Escherichia coli* producen hemolisina y aerobactinas que destruyen los hematíes y tejidos adyacentes con la consiguiente reacción inmunitaria del huésped.¹²

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Determinar la frecuencia de la sensibilidad disminuida a las quinolonas en cepas de *Escherichia coli* productoras de infección del tracto urinario en pacientes del consultorio externo e interno del Hospital Obrero Nro. 1 durante las gestiones 2008-2009.

¹²MIMS, CEDRIC. Microbiología Medica. 2ed. Buenos Aires. McGrawHill..737



2.2 Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia global de Sensibilidad disminuida a las quinolonas.
- Determinar la frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas según la edad y el sexo.
- Determinar la frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas según el servicio solicitante.
- Determinar la frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas en relación a la sensibilidad y resistencia otros antimicrobianos.
- Determinar las alternativas terapéuticas para el tratamiento de las ITU.

3. DISEÑO METODOLÓGICO.

El estudio que se llevo a cabo fue de tipo longitudinal, retrospectivo y descriptivo, en pacientes de consultorio que asisten al laboratorio del Hospital Obrero N° 1 de la Caja Nacional de Salud de la ciudad de La Paz, a partir de las solicitudes médicas del archivo del laboratorio del Hospital Obrero desde el junio 2008 y junio 2009.



3.1 Universo y Muestra

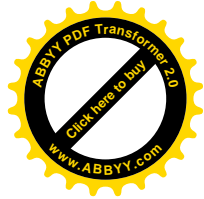
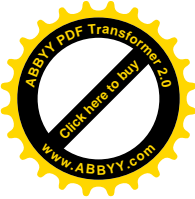
Se tomó como universo a todas las muestras de orina de chorro medio para urocultivo que solicitaron cultivo y antibiograma al servicio de bacteriología del Hospital Obrero N° 1 de la ciudad de La Paz en las gestiones 2008 hasta 2009

3.2 Criterio de Inclusión

Se tomaron en cuenta para el perfil de sensibilidad disminuida a quinolonas a todas las muestras que presenten *Escherichia coli* uropatogeno que en el antibiograma mostro resistencia a acido nadilixico y cirofloxacina

3.3 Criterio de exclusión

Se excluyeron de este estudio a todas las muestras que no presentaron a *Escherichia coli* en cultivos de orina de chorro medio.



3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Tipo	Operacionalización		Indicador
		Escala	Descripción	
Edad	Cuantitativa continua	Grupo etario 18-28 28-38 28-48 48- 58 58-68 68-78 78-88 88- 98 > 90	Según la edad del paciente	Porcentaje de sensibilidad, especificidad.
Sexo	Cualitativa Nominal dicotómica	Masculino Femenino	Según el sexo biológico del paciente	Porcentaje de varones y mujeres con SDQ
Agente etiológico	Cualitativa nominal	Microorganismo aislado	Según el agente etiológico identificado en la infección	Porcentaje según el tipo de muestra.
Muestra	Cualitativa nominal	-Orina por chorro medio	Según la muestra procesada	Porcentaje de la muestra según el microorganismo aislado.
Resistencia a Ac. Nalidíxico Norfloxacin Ciprofloxacina	Cualitativa ordinal	Resistencia Ac. Nalidíxico Norfloxacin Ciprofloxacina	Según el halo de inhibición	Porcentaje de sensibilidad y resistencia en función al microorganismo aislado.
Sensibilidad microbiana	Cualitativa Nominal politómica	-Sensible (S) -Resistente (R) -intermedio (I)	Según la resistencia a los antimicrobianos	Porcentaje de sensibilidad y resistencia

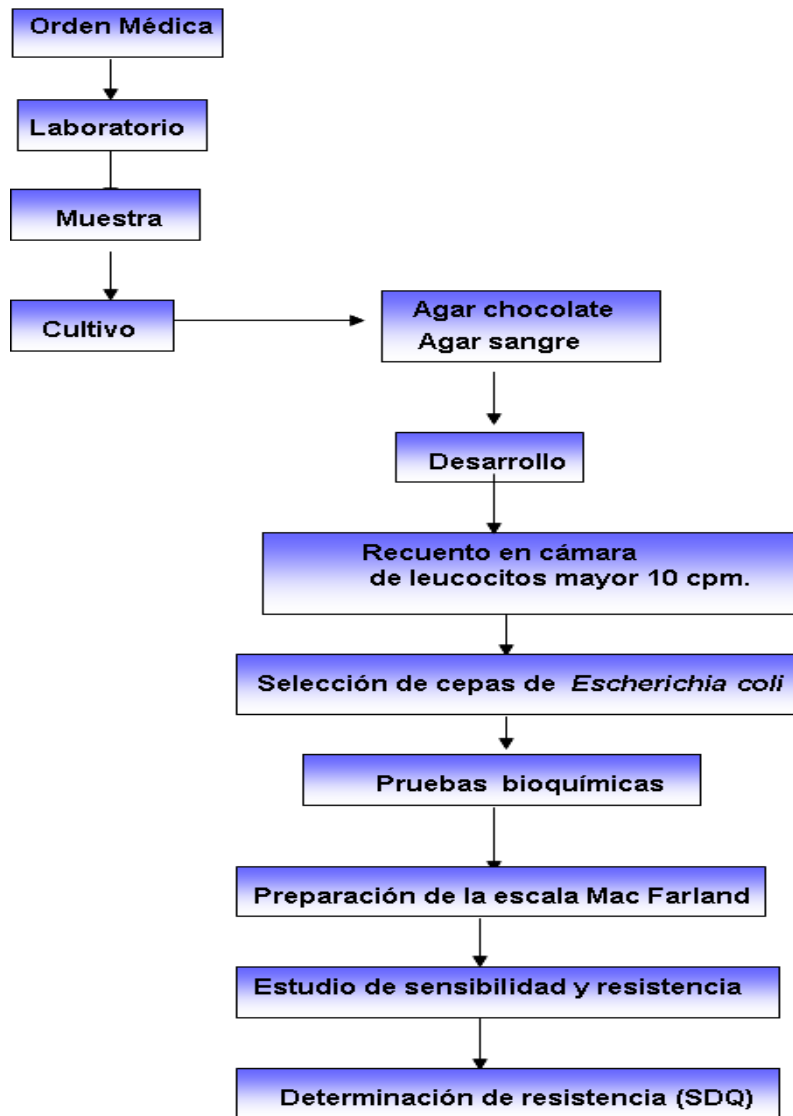


3.5 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

3.5.1 Muestra

Se procesaran todas las muestras con aislamiento de *Escherichia coli* que llegan al laboratorio de Microbiología del Hospital Obrero en las gestión 2008 y parte del 2009

3.5.2 Procesamiento y análisis





3.6 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.6.1 Materiales

- ✓ Cajas petri de 10 y 20mL.
- ✓ Asa bacteriológica
- ✓ Mechero bunsen
- ✓ Hisopos estériles
- ✓ Portaobjetos
- ✓ Tubos de ensayo con tapa rosca estériles
- ✓ Aguja bacteriológica

3.6.2 Equipos

- ✓ Autoclave de vapor
- ✓ Incubadora de 37°C
- ✓ Microscopio óptico
- ✓ Refrigerador 4°C



3.6.3 Reactivos

- ✓ Agar Sangre
- ✓ Agar Muller Hinton
- ✓ Colorantes (Tinción de Gram)
- ✓ Solución fisiológica
- ✓ Baterías (TSI, SIM , LIA, UREA, ORNITINA)
- ✓ Aceite de inmersión
- ✓ Sensidiscos

3.6.4 Toma de Muestra

La consideración más importante que se debe tener en cuenta para la recolección de una muestra con valor clínico es la prevención de su contaminación con la flora normal vaginal , perineal y de la uretra anterior .el procedimiento menos invasor , la recolección de la muestra a chorro medio , debe ser realizado cuidadosamente para obtener un resultado óptimo sobretodo en las mujeres :para ello es esencial una buena instrucción al paciente



3.6.4.1 Mujeres

- Realizar un aseo genital superficial con agua corriente y un poco de jabón enjuagar muy bien con agua tibia y secar con gasa estéril
- Desechar el primer chorro en el inodoro
- Colocar el recipiente estéril debajo del chorro de la orina y recoja el resto de esta en el envase
- Una vez que se ha terminado ajustar la tapa del recipiente y lavar cualquier resto de orina que hubiera salpicado al exterior de este
- Coloque el nombre completo del paciente
- Entregar el envase con la orina , bien tapada , al personal adecuado

3.6.4.2 Hombres

- Realizar un lavado con agua corriente y un poco de jabón todo el pene y enjuagar con bastante agua tibia
- Retraer el prepucio con una mano , orinar al inodoro , luego del primer chorro colocar el frasco estéril debajo el chorro de orina y recoger el resto de esta en el envase
- Coloque el nombre completo del paciente y entregar al personal adecuado.



3.6.5 UROCULTIVO

Una vez que la muestra orina de chorro medio llega al laboratorio de diferentes servicios y de pacientes externos debe ser cultivada para el aislamiento, se inocula la parte media de la orina en agar sangre. La orina debe ser mezclada cuidadosamente antes de su inoculación.

Es importante el uso de una asa calibrada que descarga un volumen de 0.01 mL de orina esto para un mejor recuento de las colonias.

3.6.5.1 Procedimiento de la siembra

- Quemar el asa calibrada pasándola por la llama, dejar que enfrié apoyando en posición invertida sin que toque ninguna superficie.
- Mezclar la orina cuidadosamente y destapar el recipiente.
- Insertar el asa verticalmente en la muestra para que la orina se adhiera al arco.
- Diseminar la orina cargada en el asa y depositar el inóculo sobre el medio de cultivo.



- Diseminar la orina cargada en el asa y depositar el inculo sobre el medio de cultivó

3.6.5.2 Incubación de la muestra

- Incubar las placas de 18 a 24 horas a temperatura de 35 a 37° C en aerobiosis

3.6.5.3 Lectura e interpretación

- Se debe observar al microscopio y realizar el recuento en cámara que debería ser leucocitos mayor 10 cpm realizar cultivo.
- Menor a 10 cpm es urocultivo negativo no es significativo
- Si después de la incubación a 35 °C – 37°C durante las 48 horas no existe desarrollo en los medios de cultivo, se reporta como negativo.
- Si en el transcurso de las 24 horas se observa desarrollo de colonias en los medios de cultivo , se cuantifica de la siguiente manera.
- Con más de 100.000 U.F.C por mL existe una probabilidad de bacteriuria significativa del 80%.
- De 10.000 a 100.000 U.F.C por mL, la probabilidad de bacteriuria es dudosa



3.6.6 ANTIBIOGRAMA

Para el antibiograma utilizaremos de MULLER HINTON y como método estándar el de KIRBY BAUER.

3.6.6.1 Preparación del medio

Se coloca de 25 a 30 mL de agar Muller Hinton en cajas petri de 100 mm. En diámetro y 4 mm de profundidad, este medio se almacena en refrigeración de 2°C a 8°, pudiendo ser utilizado dentro de los siete días después de su preparación, el pH de este debe estar de 7.2 a 7.4 a temperatura ambiente.

3.6.6.2 Preparación del inculo

Se debe escoger de 3^a a 5 colonias y se coloca en solución fisiológica. agitar el inculo hasta obtener una suspensión homogénea y llevarla a incubar a 37°C hasta conseguir la turbidez de 0.5 en la escala de Mc Farland.



3.6.6.3 Procedimiento de la siembra

con un hisopo estéril previamente humedecido con el inóculo se procede a sembrar sobre la superficie del medio de Muller Hinton , teniendo sumo cuidado de no sobre sembrar la muestra , luego dejar reposar unos minutos para luego colocar loa discos con antibióticos .

3.6.6.4 Utilización de los discos

Los discos utilizados para el antibiograma son producidos por empresas importadoras de insumos para laboratorios. Estos discos son papel filtro embebidos con diferentes antibióticos, tienen un diámetro de 8mm.

La distancia entre disco cebe ser de 2.5 cm, esto para que los halos de sensibilidad no se unan y puedan dar resultados erróneos.

3.6.6.5 Lectura del antibiograma

después que haya transcurrido de 18 a 24 horas s mide los halos de inhibición con la ayuda de una regla y se consigna los resultados emitidos para luego compararlos con tablas especificas donde se relacionan los milímetros encontrados con los términos sensibilidad , intermedio y resistentes .



3.6.7 PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Las pruebas bioquímicas son un parámetro muy importante para la identificación de los diferentes microorganismos, así para *Escherichia coli* tenemos un batería bioquímica establecidas.



4. RESULTADOS

TABLA N° 1.

Frecuencia de sensibilidad disminuida al ácido nalidíxico en muestras de *Escherichia coli* productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital Obrero N° 1 de Junio 2008 a Junio 2009.

ACIDO NALIDIXICO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
I	129	2,53%
SDQ	3694	72,47%
SQ	1274	25,00%
TOTAL	5097	100%

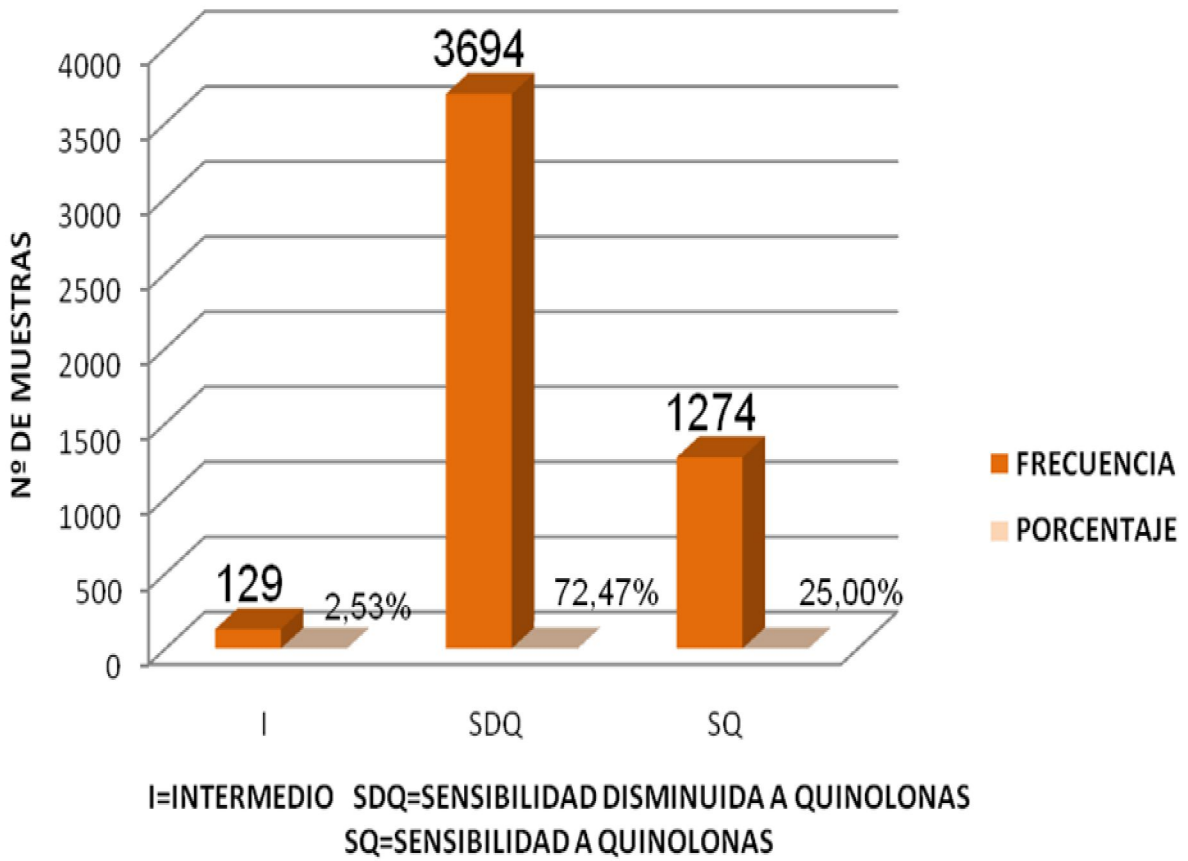
Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008



GRAFICA Nº 1.

Frecuencia de sensibilidad disminuida al ácido nalidíxico en muestras de *Escherichia coli* productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital Obrero Nº 1 de Junio 2008 a Junio 2009.

FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A ACIDO NALIDIXICO EN *ESCHERICHIA COLI*



Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008

Sobre un total de 5097 de muestras de *Escherichia coli* analizadas podemos decir que existe una mayor sensibilidad disminuida al ácido nalidíxico que representa a 3694 muestras del total analizadas lo que implica un porcentaje de 72.47 % de Junio 2008 a Junio 2009.



TABLA N 2.

Frecuencia de sensibilidad disminuida a la Ciprofloxacina en muestras de *Escherichia coli* productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital Obrero N° 1 de Junio 2008 a Junio 2009.

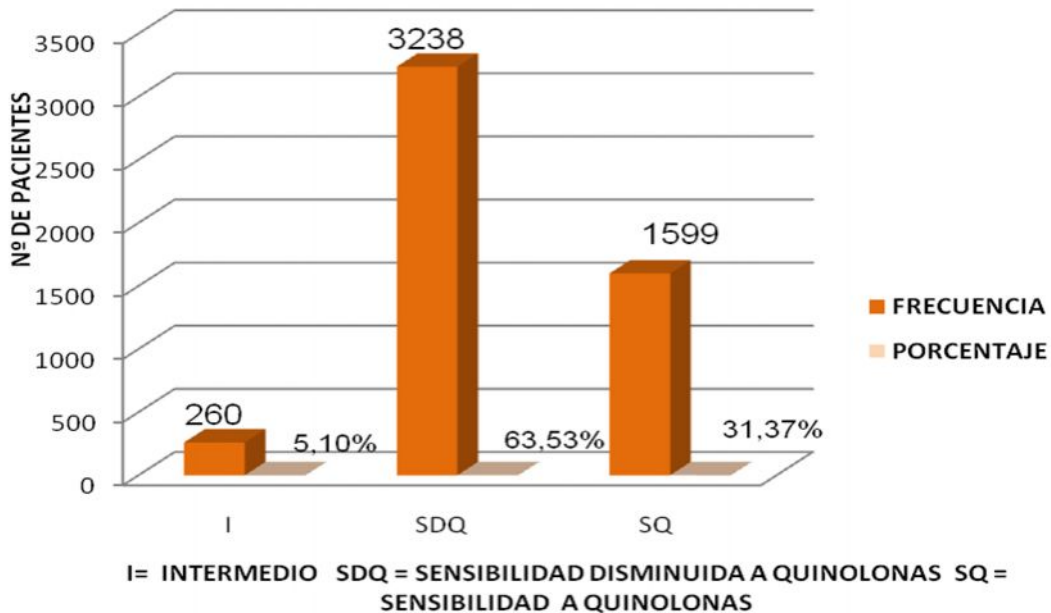
CIPROFLOXACINA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
I	260	5,10%
SDQ	3238	63,53%
SQ	1599	31,37%
TOTAL	5097	100%

Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008

GRAFICA N° 2.

Frecuencia de sensibilidad disminuida a la ciprofloxacina en muestras de *Escherichia coli* productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital Obrero N° 1 de Junio 2008 a Junio 2009.

FRECUENCIA DE SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LA CIPROFLOXACINA EN *ESCHERICHIA COLI*





Sobre un total de 5097 de muestras de *Escherichia coli* analizadas podemos decir que existe una mayor sensibilidad disminuida a la ciprofloxacina que representa a 3238 muestras del total analizadas lo que implica un porcentaje de 63.53 % de Junio 2008 a Junio 2009.

TABLA N 3.

Frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas según la edad de cepas productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital .Obrero Nro. 1, durante la gestión 2008-2009.

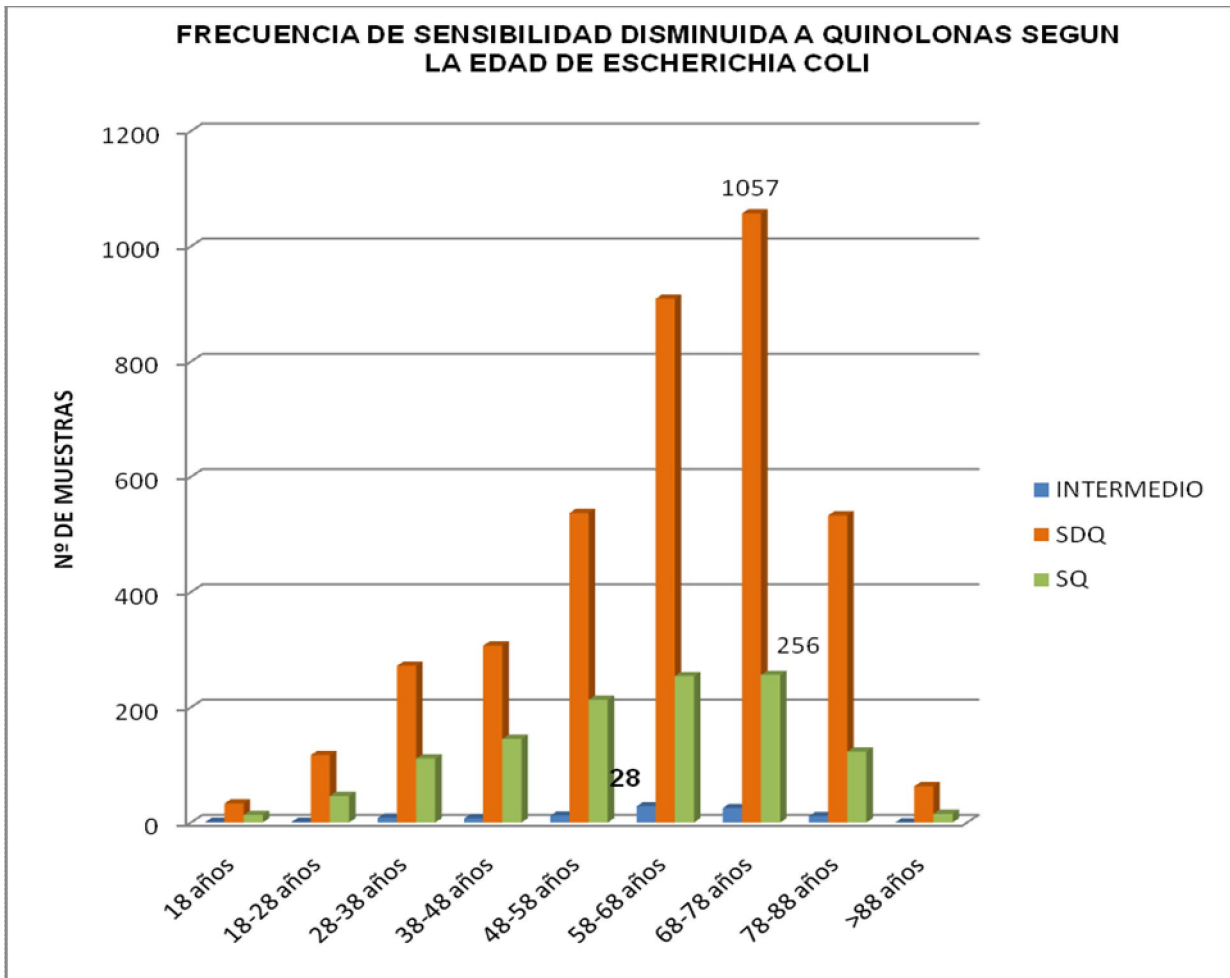
EDAD	I	SDQ	SQ	TOTAL	PORCENTAJE
18 años	1	33	13	47	0,92%
18-28 años	1	117	46	164	3,22%
28-38 años	8	272	111	391	7,67%
38-48 años	7	307	145	459	9,00%
48-58 años	12	537	213	762	14,95%
58-68 años	28	909	254	1191	23,37%
68-78 años	25	1057	256	1338	26,25%
78-88 años	11	533	123	667	13,09%
>88 años	0	63	15	78	1,53%
TOTAL	93	3828	1176	5097	100%

Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008



GRAFICA Nº 3.

Frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas según la edad de cepas productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital .Obrero Nº 1, durante la gestión 2008-2009.



Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008

Sobre un total de 5097 muestras analizadas, podemos decir que hubo una mayor sensibilidad disminuida a quinolonas obteniendo 1057 pacientes los cuales eran de 68-78 años, correspondientes de Junio de 2008 a Junio 2009.

Con relación a la sensibilidad de quinolonas podemos decir que hubo 256 muestras de *Escherichia coli* en pacientes de 68 – 78 años, correspondientes de Junio 2008 a Junio 2009.



TABLA N°4.

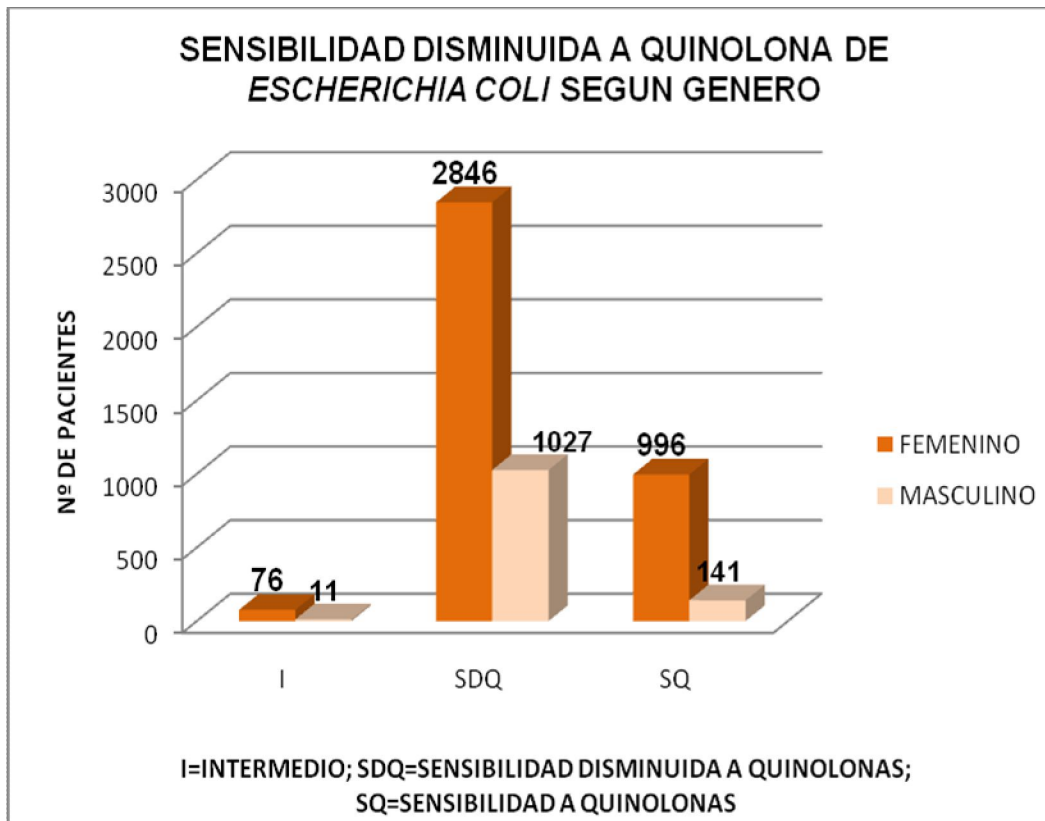
Frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas según genero de cepas productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital Obrero N° 1 durante la junio 2008-junio 2009.

GENERO	I	SDQ	SQ	TOTAL	PORCENTAJE
FEMENINO	76	2846	996	3918	76,87%
MASCULINO	11	1027	141	1179	23,13%
TOTAL	87	3873	1137	5097	100%

Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008

GRAFICA N° 4.

Frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas según genero de cepas productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital Obrero N° 1 durante la junio 2008-junio 2009.



Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008



Sobre un total de 5097 muestras analizadas, podemos decir que se presento una mayor sensibilidad disminuida al Acido Nalidíxico y ciprofloxacina de 2846 muestras correspondiente , que representa un 76,87 % , una sensibilidad a quinolonas de 996 muestras que representa un 76,87 % del total de muestras procesadas desde Junio de 2008 hasta junio de 2008.

La segunda muestra con mayor prevalencia es el género masculino con una frecuencia de 1027 correspondientes muestras que representa un 23,23 % desde Junio de 2008 hasta junio de 2008.

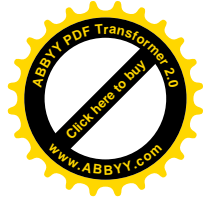
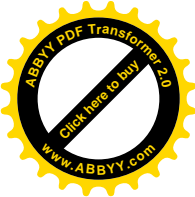


TABLA N° 5.

Frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas según el servicio solicitante de cepas productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital Obrero N°1 durante junio 2008 hasta junio 2009.

SERVICIO	I	SDQ	SQ	TOTAL	PORCENTAJE
CARDIOLOGIA	1	66	18	85	1,67%
CIRUGIA	3	83	22	108	2,12%
CIRUGIA VASCULAR	0	33	5	38	0,74%
CONSULTORIO EXTERNO	4	128	59	191	3,75%
HEMATOLOGIA	0	1	3	4	0,08%
HEMODIALISIS	0	25	5	30	0,59%
MEDICINA INTERNA	12	614	166	792	15,54%
NEFROLOGIA	5	170	51	226	4,44%
QUEMADOS	0	37	4	41	0,80%
TRAUMATOLOGIA	6	240	87	333	6,53%
UCE	0	6	1	7	0,14%
UCIC	0	3	0	3	0,06%
URGENCIAS	31	737	331	1099	21,56%
UROLOGIA	33	1656	430	2119	41,57%
UTI	0	17	2	19	0,37%
UTIC	0	1	1	2	0,04%
TOTAL	95	3817	1185	5097	100%

Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008



Sobre un total de 5097 muestras analizadas, podemos decir que hubo una sensibilidad disminuida al ácido nalidíxico y ciprofloxacina en el servicio de urología con 1656 muestras del total que equivale a un 41,57 %, según la muestra es del servicio de medicina interna con 614 muestras que representa 15,54 % correspondiente a Junio de 2008 hasta junio de 2008.

La sensibilidad a quinolona en el servicio de urología es 430, de medicina interna 166 muestras correspondiente a Junio de 2008 hasta junio de 2009

SENSIBILIDAD DISMINUIDA A QUINOLONAS EN *E. COLI* SEGUN EL SERVICIO DEL HOSP. "OBRERO" JUNIO 2008 - JUNIO 2009

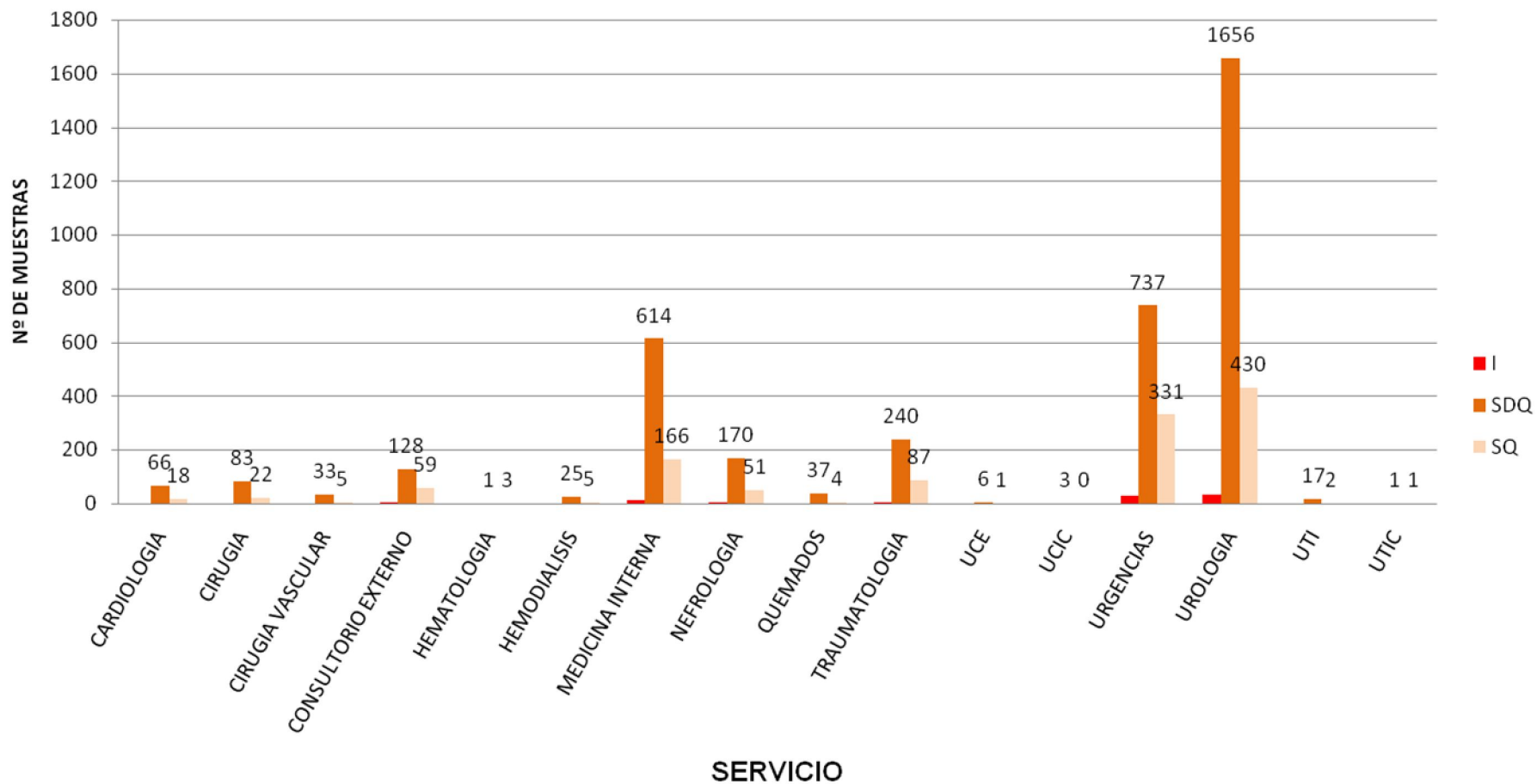




TABLA N°6.

Frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas en relación a la sensibilidad y resistencia a otros antimicrobianos (ampicilina, amoxi-ac. Clavulanico, ceftriaxona, cefalotina, cotrimoxazol, amikacina, gentamicina, nitrofurantoina,) en cepas de *Escherichia coli* productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) en los pacientes del Hospital Obrero Nro 1 durante la junio 2008 hasta junio 2009.

Amoxicilina	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
I	66	1,40%	1,40%
R	4577	95,00%	96,40%
S	173	3,60%	2.20%
Total	4816	100,00%	100,00%

Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008

Las cepas de *Escherichia coli* a la amoxicilina tienen una resistencia 4577 que es 95 %, y una sensibilidad de 173 muestras que representa 3.60 % durante junio 2008 a junio 2009.

TABLA N° 7.



Frecuencia de sensibilidad de Amoxicilina – Acido Clavulánico *Escherichia coli* obtenidos en el Hospital Obrero N°1 de la ciudad de La Paz durante junio 2008 hasta junio 2009.

Amoxicilina-Ac. clavulánico	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
I	164	3,40%	3,40%
R	4215	87,50%	90,90%
S	437	9,10%	5.70%
Total	4816	100,00%	100,00%

De 4816 muestras de *Escherichia coli* a Amoxicilina – acido clavulanico presenta una resistencia de 4215 del total que es un 87,59 %; una sensibilidad de 437 que es 9,10 % y intermedio 164 que es 3.40 %.

TABLA N° 8.

Frecuencia de sensibilidad a la Amikacina de *Escherichia coli* obtenidos en el Hospital Obrero N°1 de la ciudad de La Paz durante junio 2008 hasta junio 2009.



Amikacina	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
I	214	4,50%	4,50%
R	265	5,50%	10,00%
S	4298	90,00%	85,50%
Total	4777	100,00%	100,00%

De 4777 muestras de *Escherichia coli* a Amikacina presenta una resistencia de 265 del total que es 5,50 %; una sensibilidad de 4298 que es 90,0 % y intermedio 214 que es 4,50 %.

TABLA N° 9.

Frecuencia de sensibilidad a la cefepime de *Escherichia coli* obtenidos en el Hospital Obrero N°1 de la ciudad de La Paz durante junio 2008 hasta junio 2009.

Cefepime	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
I	2	1,10%	1,10%
R	22	12,60%	13,80%
S	150	86,20%	85,10%
Total	174	100,00%	100,00%

De 174 muestras de *Escherichia coli* a cefepime presenta una resistencia de 22 del total que es 12,60 %; una sensibilidad de 150 que es 86,20% y intermedio 2 que es 1,10 %.

TABLA N° 10.

Frecuencia de sensibilidad a la cefalotina de *Escherichia coli* obtenidos en el Hospital Obrero N°1 de la ciudad de La Paz durante junio 2008 hasta junio 2009.



Cefalotina	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
I	307	6,60%	6,60%
R	3944	84,90%	91,60%
S	392	8,40%	1.80%
Total	4643	100,00%	100,00%

De 4643 muestras de *Escherichia coli* a cefalotina presenta una resistencia de 3944 del total que es 84,90%; una sensibilidad de 392 que es 8,40% y intermedio 307 que es 6,60%.

TABLA N° 11.

Frecuencia de sensibilidad a la ceftriaxona de *Escherichia coli* obtenidos en el Hospital Obrero N°1 de la ciudad de La Paz durante junio 2008 hasta junio 2009.

Ceftriaxona	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
I	283	5,90%	5,90%
R	1271	26,40%	32,20%
S	3268	67,80%	61.90%
Total	4822	100,00%	100,00%

De 4822 muestras de *Escherichia coli* a ceftriaxona presenta una resistencia de 1271 del total que es 26.40%; una sensibilidad de 3268 que es 67,80% y intermedio 283 que es 5.90%.

TABLA N° 12.

Frecuencia de sensibilidad a la Cotrimoxazol de *Escherichia coli* obtenidos en el Hospital Obrero N°1 de la ciudad de La Paz durante junio 2008 hasta junio 2009.



Cotrimoxazol	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
I	86	1,80%	1,80%
R	3965	83,10%	84,90%
S	723	15,10%	13,30%
Total	4774	100,00%	100,00%

De 4774 muestras de *Escherichia coli* a cotrimoxazol presenta una resistencia de 3965 del total que es 83,10%; una sensibilidad de 723 que es 15,10% y intermedio 86 que es 1,80 %.

TABLA N° 13.

Frecuencia de sensibilidad a la gentamicina de *Escherichia coli* obtenidos en el Hospital Obrero N°1 de la ciudad de La Paz durante junio 2008 hasta junio 2009.

Gentamicina	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
I	136	2,80%	2,80%
R	1751	36,50%	39,30%
S	2912	60,70%	57,90%
Total	4799	100,00%	100,00%

Fuente: Libros de registro del laboratorio Hosp. Obrero 2007-2008



De 4799 muestras de *Escherichia coli* a gentamicina presenta una resistencia de 1751 del total que es 36,50%; una sensibilidad de 2912 que es 60,70% y intermedio 136 que es 2,80 %.



5. DISCUSION

Los resultados obtenidos nos permiten observar el comportamiento en este vasto subgrupo poblacional que representa a la mayoría de la población del departamento. Un aspecto interesante fue que hay diferencias en términos de edad y genero. Según los resultados se puede observar la resistencia a las quinolonas en las variables que se tomaron en cuenta para este estudio.

En el trabajo se describe claramente la tasa elevada de resistencia a la quinolonas en cepas de *Escherichia coli*, sobre un total 5097 muestras procesadas, se obtuvo mayor sensibilidad desminuida a las quinolonas de la primera generación que representa 3694 muestras del total analizado, lo que implica un porcentaje del 72.47 % y las quinolonas de segunda generación que muestran una sensibilidad desminuida de 3238 muestras del total analizado que representa un total del 63.53%. Estas cifras encontradas deben alertar a la población debido a que la Ciprofloxacina es una valiosa y eficaz en el tratamiento de las infecciones del tracto urinario (ITU). Hoy en día su uso parece indiscriminado, dejando de lado tratamientos de antibióticos de primera línea, igualmente eficaces. Es por ello que se muestra un aumento en la residencia a dichas quinolonas.

Debido a esta resistencia se debe buscar nuevas alternativas terapéuticas pero que no tengan un costo elevado para la población.



Según la edad podemos observar que el grupo etario mas afectado son los pacientes de 58 a 68 años y de 68 a 78 años, con una cifra de 1057 muestras esto se debe a que los pacientes se encuentran en inmunodeprimidos y no tienen un buen uso de los antibióticos.

En la frecuencia de sensibilidad disminuida a quinolonas según género se observa una tasa elevada de resistencia en el género femenino, esto debido a que *Escherichia coli* puede llegar al árbol urinario transportada por la circulación desde algún foco infeccioso distante; esta infección se ha producido por vía descendente. Si los gérmenes llegan a la vejiga directamente a través de la uretra, la infección se ha producido por vía ascendente. También debemos tomar en cuenta la descripción anatómica de la mujer para que tenga una tasa elevada de ITU.

La razón por la cual las mujeres son tanto más propensas a esta patología se debe a la situación anatómica de la zona urogenital, con una uretra más corta que permite fácilmente la ascensión de gérmenes. Además de lo anterior, las relaciones sexuales y los embarazos aumentan el riesgo de que se produzca este mecanismo de infección. También hay que tomar en cuenta el uso de artefactos anticonceptivos y de espermicidas. La acidez de la vagina mantenida a través de los lactobacillus -flora bacteriana normal- contribuye también a evitar que se desarrolle la *Escherichia coli* a este nivel.

En el trabajo la frecuencia de Sensibilidad disminuida a las quinolonas en relación a la sensibilidad y resistencia a otros antimicrobianos (Ampicilina,



Amoxi-ac. Clavulanico, Ceftriaxona, Cefalotina, Cotrimoxazol, Amikacina, Gentamicina, Nitrofurantoina,) en cepas de *Escherichia coli* productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) la de mejor elección para su tratamiento es la Amikacina porque de 4777 muestras de *Escherichia coli* a la Amikacina presenta una resistencia de 265 del total que es 5,50%; una sensibilidad de 4298 que es 90,0 % y intermedio 214 que es 4,50 %; de 174 muestras de *Escherichia coli* a Cefepime presenta una resistencia de 22 del total que es 12,60 %; una sensibilidad de 150 que es 86,20% y intermedio 2 que es 1,10 %. La Ceftriaxona como la Gentamicina para su tratamiento.

Ante la resistencia hacia las quinolonas la mejor elección para el tratamiento de ITU seria el Imipenem pero este fármaco es muy costoso y afecta a os niños y adultos con reacción adversas y daños irreversibles Se puede afirmar que los mecanismos de resistencia a las quinolonas consisten en mutaciones en los genes que codifican la DNA girasa y la topoisomerasa IV, alteraciones en la permeabilidad de la membrana y flujo activo de los antimicrobianos desde las células al exterior. Este proceso de expulsión es importante ya que puede permitir que las bacterias sobrevivan durante un corto periodo de tiempo y desarrollen resistencias vía mutaciones en los lugares clave de los genes de las dianas de las quinolonas. Los tres tipos de mecanismos de resistencia pueden manifestarse solos o en combinación, si bien se cree que el aumento en el grado de resistencia a las quinolonas in vivo se debe a varios mecanismos simultáneos o secuenciales. Existe una alta resistencia de *Escherichia coli* en relación con bajas dosis de Ciprofloxacina indicadas en el



Servicio de Urología del HSR. Esto podría explicarse por el uso ambulatorio indiscriminado de Ciprofloxacina.

Con la aplicación creciente de técnicas moleculares en el estudio de la resistencia a quinolonas. Disponibilidad de agentes con estructuras nuevas, una mejor comprensión de los mecanismos de acción y la resistencia son emergentes.

Dos principales mecanismos de resistencia se cree que son los más significativos: las mutaciones en el objetivo primario (topoisomerasas) y la sobreexpresión de bombas de reflujo de diversas drogas. Cromo - autosómica se producen mutaciones en los genes *gyrA* y *gyrB*, que de código para A y B, de subunidades de ADN girasa y en el que codifican para las subunidades C y E de la topoisomerasa IV. La disminución en la expresión de OmpF haya ocasionado la penetración disminución de las fluoroquinolonas, como así como los cambios en los genes *marA*, afectan a la actividad de una amplia gama de bombas de reflujo Comparando con los datos la mejor alternativa para el tratamiento de infección urinario .



6. CONCLUSIONES

- La Frecuencia encontrada de la sensibilidad disminuida a las quinolonas (Acido Nalidíxico y Ciprofloxacina) en cepas de *Escherichia coli* productoras de infección del tracto urinario (I.T.U) 3694 en el acido Nalidíxico, 3238 de ciprofloxacina del total de 5097 en muestras del Hospital Obrero durante junio 2008 hasta junio 2009.
- Con relación a la edad la mayor frecuencia de sensibilidad disminuida a quinolona fueron aquellos que se encontraban por encima de los 68 -78 años obteniendo 1057 muestras de un total de 5097 que representa un 26,25 % en muestras procesadas desde Junio 2008 a junio 200.
- Con relación al género, podemos decir que se presento una mayor sensibilidad disminuida al Acido Nalidíxico y ciprofloxacina de 2846 muestras correspondiente , que representa un 76,87 % , una sensibilidad a quinolonas de 996 muestras que representa un 76,87 % del total de muestras procesadas desde Junio de 2008 hasta junio de 2008.
- En los resultados obtenidos según el servicio hospitalario se encontró una mayor frecuencia en el servicio de de urología de un total de 5097 muestras analizadas, podemos decir que hubo una sensibilidad disminuida al acido nalidíxico y ciprofloxacina en el servicio de urología con 1656 muestras del total que equivale a un 41,57 %, la según



muestra es del servicio de medicina interna con 614 muestras que representa 15,54 % correspondiente a Junio de 2008 hasta junio de 2008.

- La sensibilidad a quinolona en el servicio de urología es 430, de medicina interna 166 muestras correspondiente a Junio de 2008 hasta junio de 2009

- En las alternativas terapéuticas para el tratamiento de las ITU. según los valores obtenidos para su tratamiento con la Amikacina, Gentamicina, Ceftriaxona y el Imipenem debido a que dichos antimicrobianos demostraron una sensibilidad disminuida considerable como se observa en las tablas.

- Como conclusión podemos decir la mayoría de cepas clínicas de *Escherichia coli* estudiadas presentaron una elevada resistencia a las quinolonas (Acido Nalidíxico y Ciprofloxacina) eso implica que la resistencia a fluoroquinolonas en las cepas de *Escherichia coli* podía deberse a la transferencia génica horizontal por parte de especies relacionadas.



- De ahí que es importante monitorear la resistencia a las quinolonas mas cuando en la infección del tracto urinario en pacientes inmunodeprimidos o en edades extremas de vida , un fallo o retardo en la respuesta del tratamiento puede traer consecuencias importantes; durante el tratamiento de las infecciones humanas: Por tanto esta falta de sensibilidad parece una consecuencia del uso indiscriminado de antibióticos en los pacientes con infecciones del tracto urinario: Los resultados de este estudio deben alertar a la sociedad y a las autoridad sanitarias de las consecuencias que acarrea el uso indiscriminado de antibióticos en las infecciones (ITU).



7. BIBLIOGRAFIA

1. ROSS, Alicia y otros. "Vigilancia de la resistencia a los antibacterianos". Salud publica panamericana. 1999. 4 v.2. marzo-abril, 234
2. KONEMAN, Elmer. Diagnóstico microbiológico. 3 ed. Buenos Aires: Panamericana, 1998, 552p.
3. PRESCOTT. Microbiología. 4 ed México DF: McGrawHill 1045p
4. BROOKS, F. Geo . Microbiología medica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 17 ed. Mexico DF: Manual Moderno. 2002. 845 p.
5. MIMS, CEDRIC. Microbiología Medica. 2ed. Buenos Aires. McGrawHill.. 737
6. GARCIA-GONZALEZ. Microbiología medica. 4 ed. Madrid. SALVAT. 1050 p
7. Socorro Leyva y Elisa Leyva Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
8. Drlica, K. & Zhao, X. La ADN-girasa, la topoisomerasa IV, y el 4-quinolonas. Microbiología y Biología Molecular Comentarios 61, 377-92. . (1997).
9. Tillotson, GS, Dorrian, I. & Blondeau, J. (1997). Fluoro - la resistencia a quinolonas: mecanismos y epidemiología. Oficial de Microbiología Médica 46, 457-61.



10. Wiedemann, B. & Heisig, P. (1994). Mecanismos de la quinolona resistencia. *Infección* 22, Supl. 2, S73-9.

11. P. Bacteriología Clínica. Mexico: Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. 2006. 220227. Murray P., Rosenthal K., Kobayashi G.et al.: *Estreptococos, Microbiologia medica*, 3 ed. Buenos aires: Mosby, 1998.

12. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Microbiología medica de Jawestz, Melnieck y Adelberg*. 17 ed. México DF: Manual moderno,2002.

13. Quintiliani R, Sahm D, Courvalin P. Mechanisms of Resistance to Antimicrobial Agents. *Manual of Clinical Microbiology* . 7 ed. Washington DC : ASM,1999, 150525.
Disponibile en <http://www.jcm.asm.org>

14. Elisa Leyva, Edgar Moctezuma, Roberto Leyva y Socorro Oros Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, S.L.P., CP 78210, México.

15. DRS. MORENO S, LAZO Servicio de Urología. *Infecciones Intrahospitalarias*. Hospital Dr. Sotero del Río

16. Niradiz Reyes, MSc, PhD Microbiología e Inmunología New York Medical College BACTERIOLOGIA MEDICA.
17. Mgtra. Yamilka L. Sánchez A. Profesora Especial Departamento de Farmacología Facultad de Medicina-Universidad de Panamá.



18. Sádaba Díaz de Rada, M. Escolar Jurado, J.R. Azanza Perea y E. García Quetglas Servicio de Farmacología Clínica. Clínica Universitaria de Navarra. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplon.
19. Nakamura S. Mechanisms of quinolone resistance. J Infect Chemother 1997; 3: 128-138. 2. Wolfson, J.S., Hooper, D.C. Fluoroquinolone antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev 1989; 2: 378-424.
20. Yoshida, H., Bogaki, M., Nakamura, M., Nakamura, S. Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase gyrA gene of Escherichia coli. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34: 1271-1272.
21. Roche, La orina al microscopio de Roche .11 _23 p
22. Bantar C., Popardo, H. Urocultivo. \$ed. Editorial Británica Madrid España.1988.9p
23. Trigos,c, Bacteriología Básica ,Ind ed. La Paz_ Bolivia 1992
24. Sosa,A. (febrero,200) Resistencia a Antimicrobianos en Latinoamérica “Patrones de susceptibilidad en Bacterias más frecuentes aisladas y implicadas para el manejo Empírico de las enfermedades Infecciosas “ Buenos Aires Argentina
25. Fernández M., Prevención de la resistencia a los Antimicrobianos en las Américas .Articulo presentado en la reunión de la Organización Panamericana de la Salud en Asunción Paraguay .Enero 1999.
26. Peter M. Hawkey, Mechanisms of quinolone action and microbial response 1*,2 1Public Health Laboratory, Heartlands Hospital,



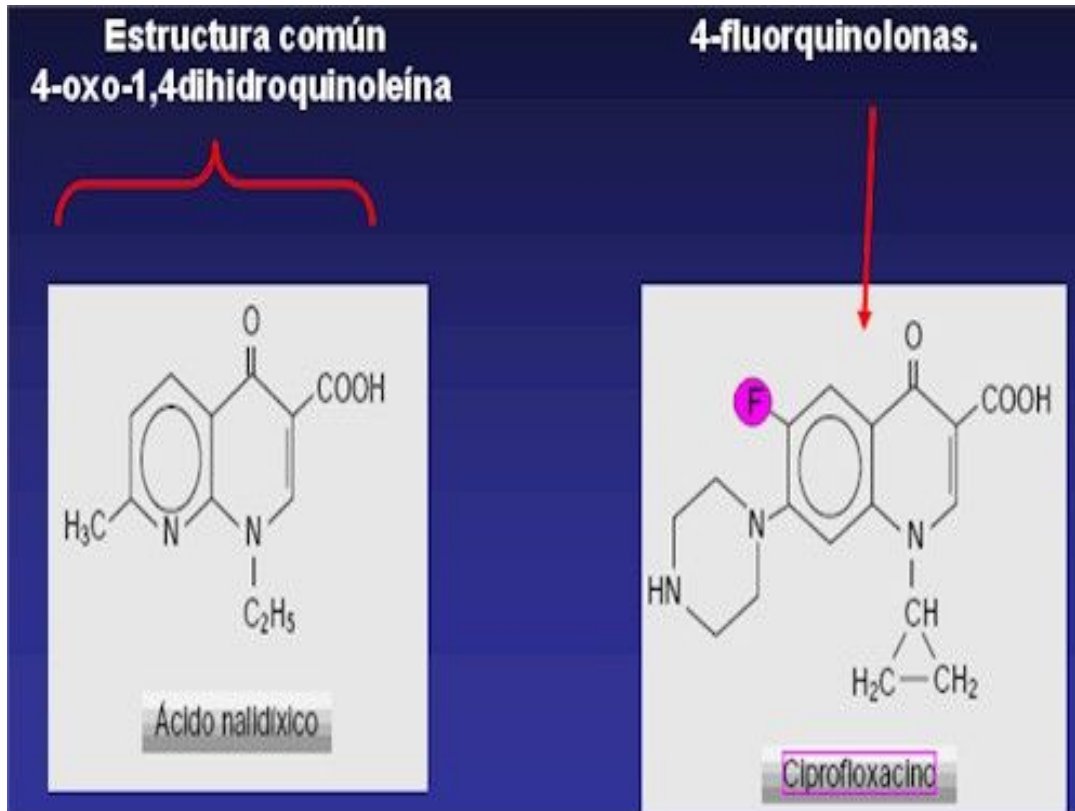
27. Bordesley Green East, Birmingham B5 9SS; 2Division of Immunity and Infection, University of Birmingham, The Medical School, Vincent Drive, Edgbaston, Birmingham B15 2TT, UK

28. Luis Martínez-Martínez¹, Alvaro Pascual¹, Isabel García¹, John Tran^{2,3} and George A. Jacoby^{2,3} 1Department of Microbiology, School of Medicine, University of Seville, Seville, Spain; 2Lahey Clinic, Burlington, MA; 3VA Medical Center, Bedford, MA, USA

ANEXOS

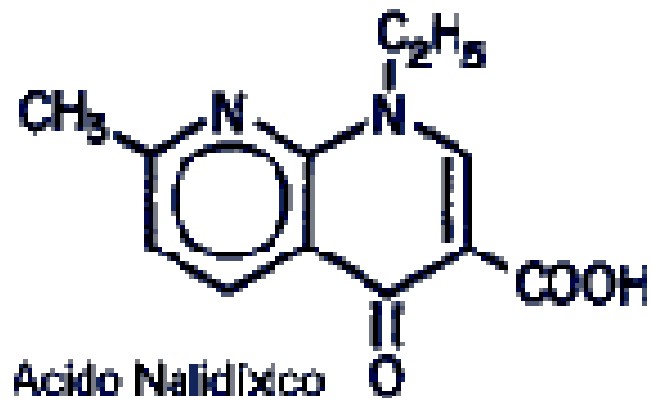
ANEXO 1

a) ESTRUCTURA QUÍMICA DE LAS QUINOLONAS

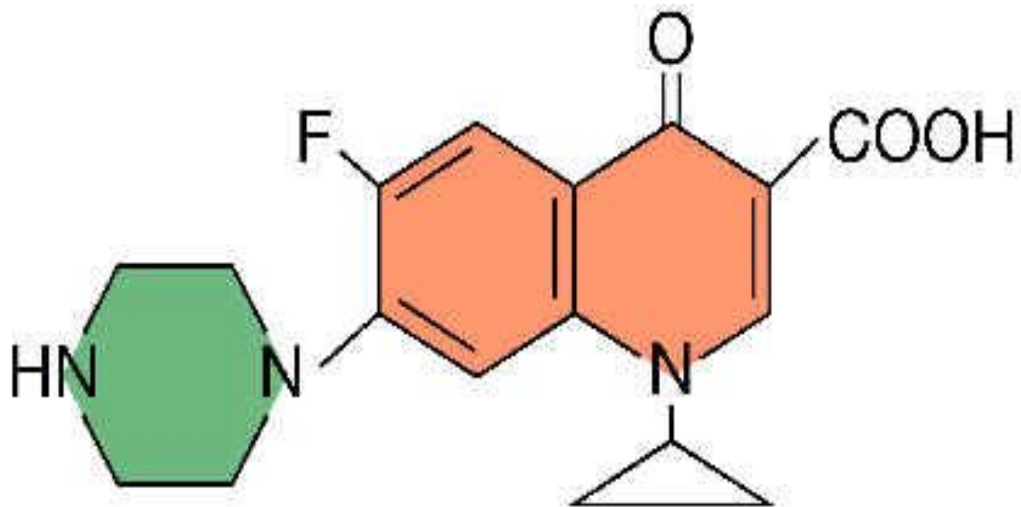


www.portalesmedicos.com/.../quilononas7.jpg

b)



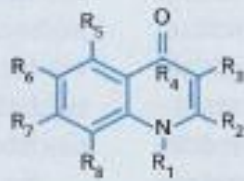
d)



Ciprofloxacina

ANEXO 2

CLASIFICACION DE LAS QUINOLONAS

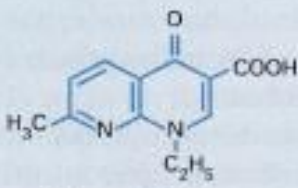


Anillo 4-quinolona

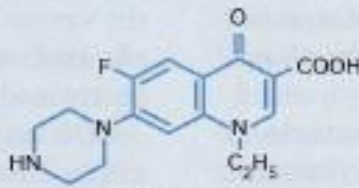
NO FLUORADAS

FLUORADAS DE SEGUNDA GENERACIÓN

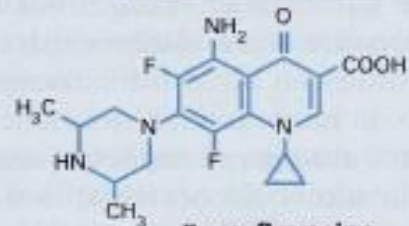
FLUORADAS DE TERCERA Y CUARTA GENERACIONES



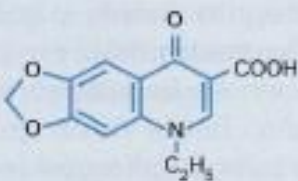
Ácido nalidíxico



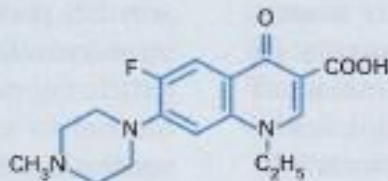
Norfloxacino



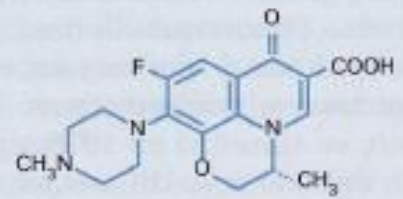
Esparfloxacino



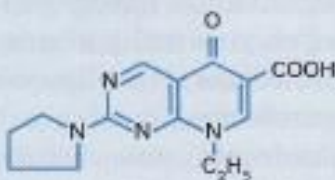
Ácido oxolinico



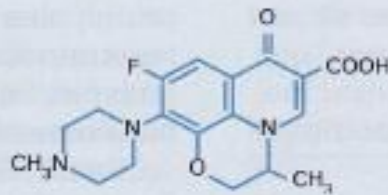
Pefloxacino



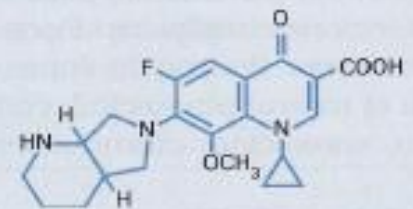
Levofloxacino



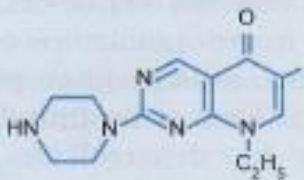
Ácido piromídico



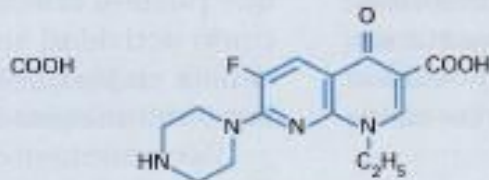
Ofloxacino



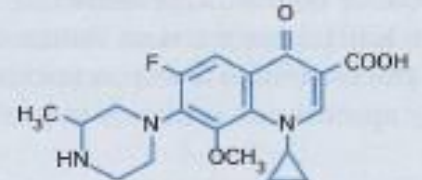
Moxifloxacino



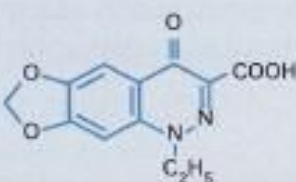
Ácido pipemídico



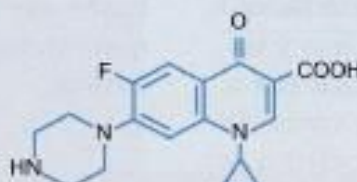
Enoxacino



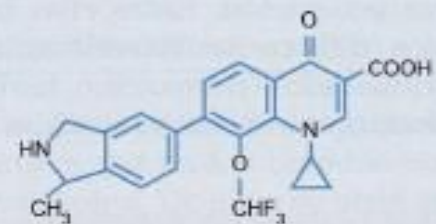
Gatifloxacino



Cinoxacino



Ciprofloxacino

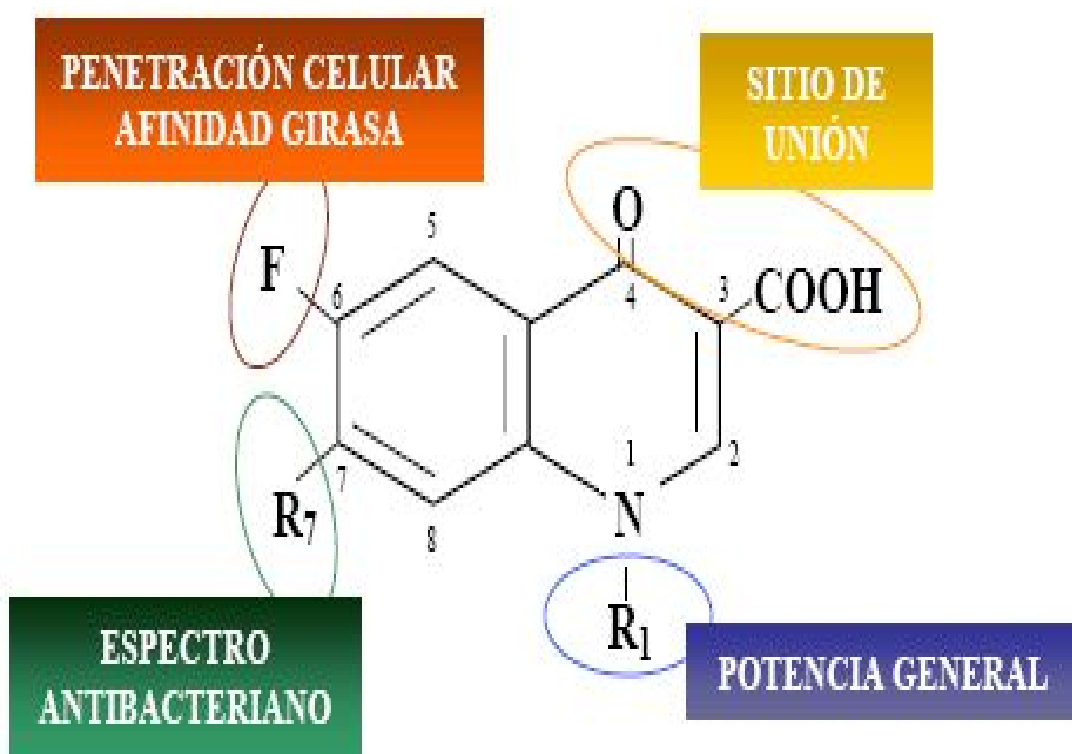


Garenoxacino

ANEXO 3

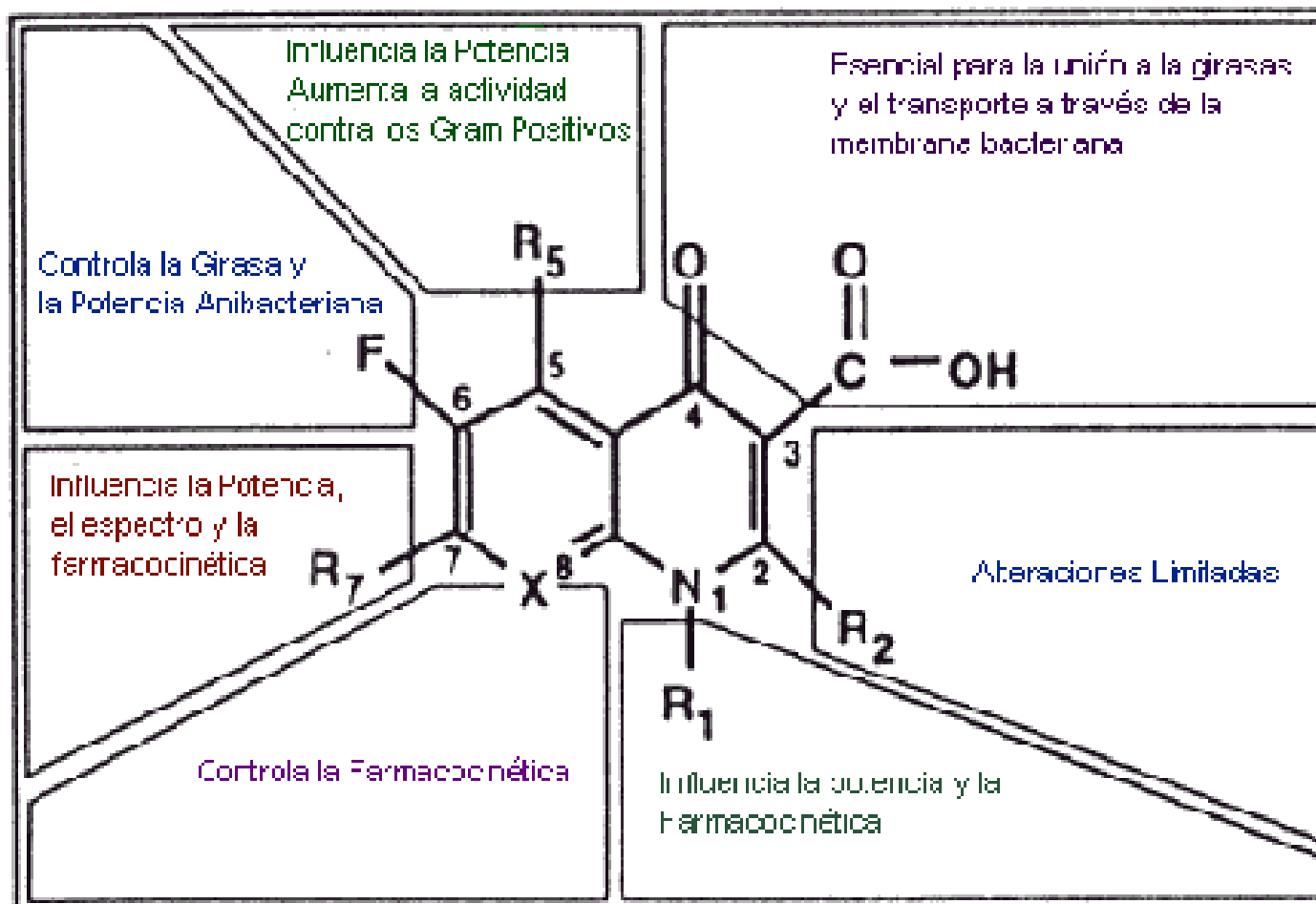
a)

RELACIÓN ENTRE ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD



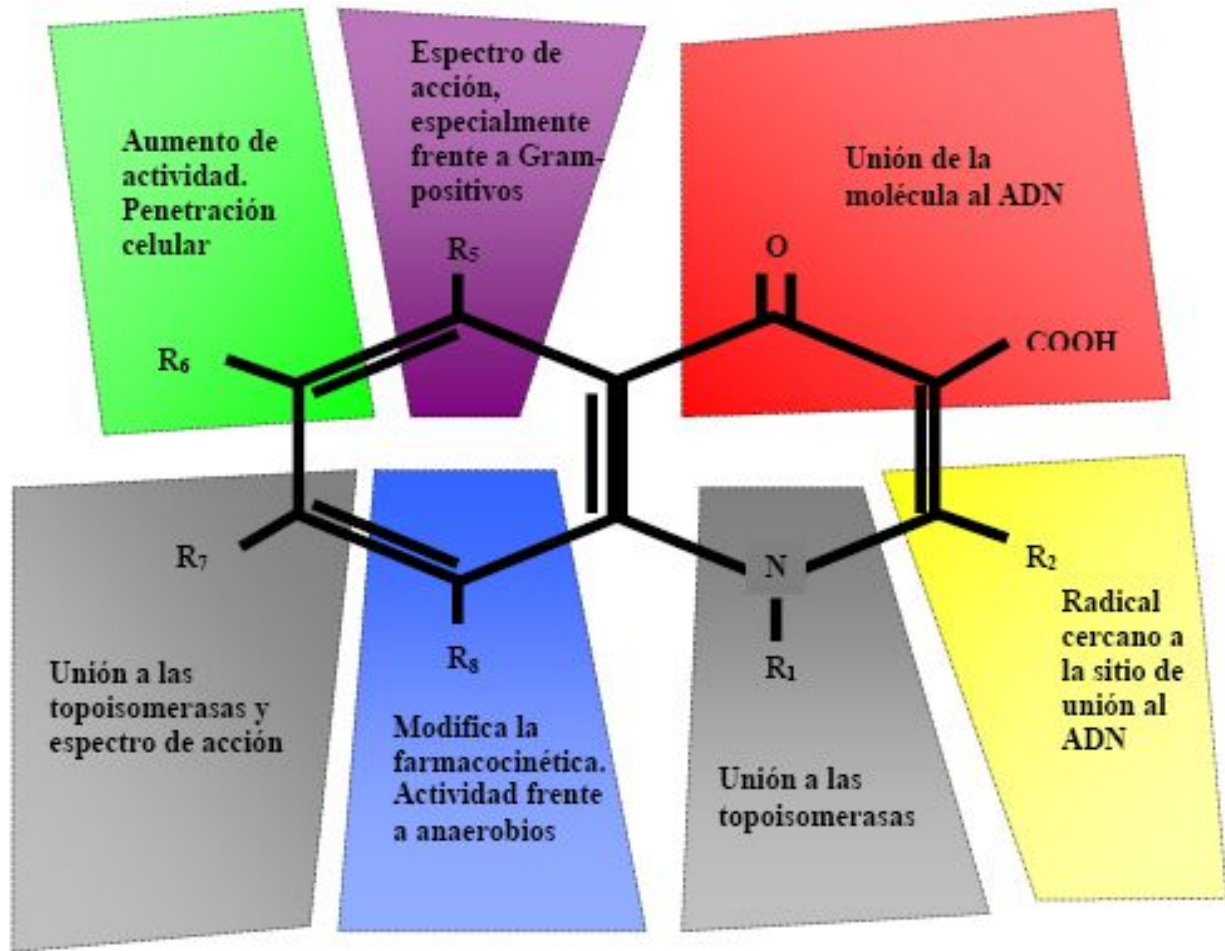
http://www.quiminet.com/ar6/ar_advvcdzgt-que-son-las-quinolonas.htm

b)

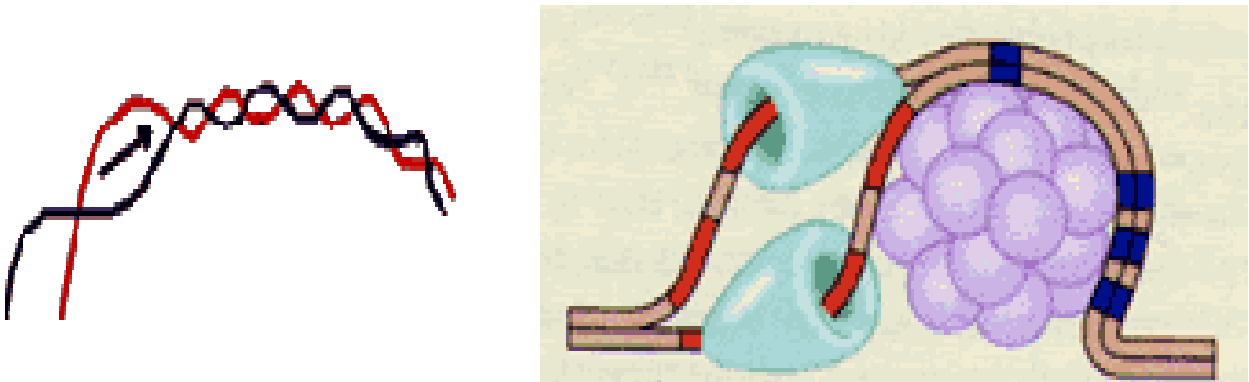


Relación entre la estructura y la actividad antibacteriana de las Quinolonas

c) RELACION ENTRE ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD



d)

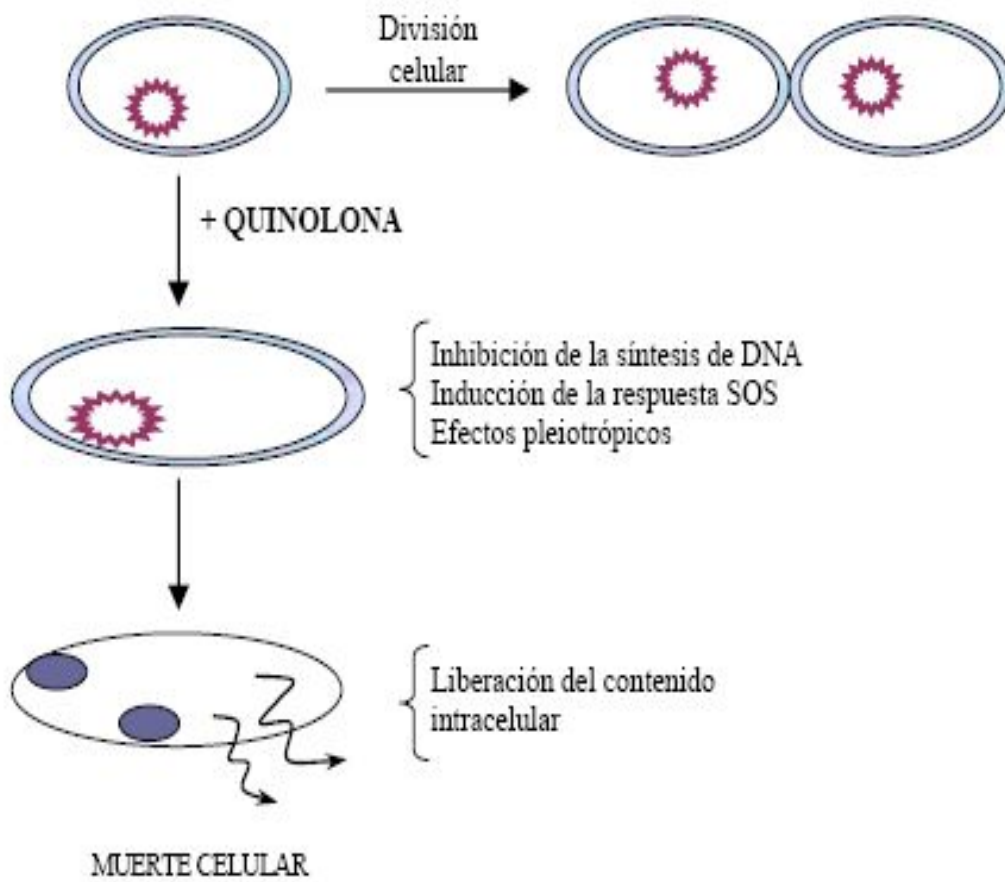




ANEXO 4

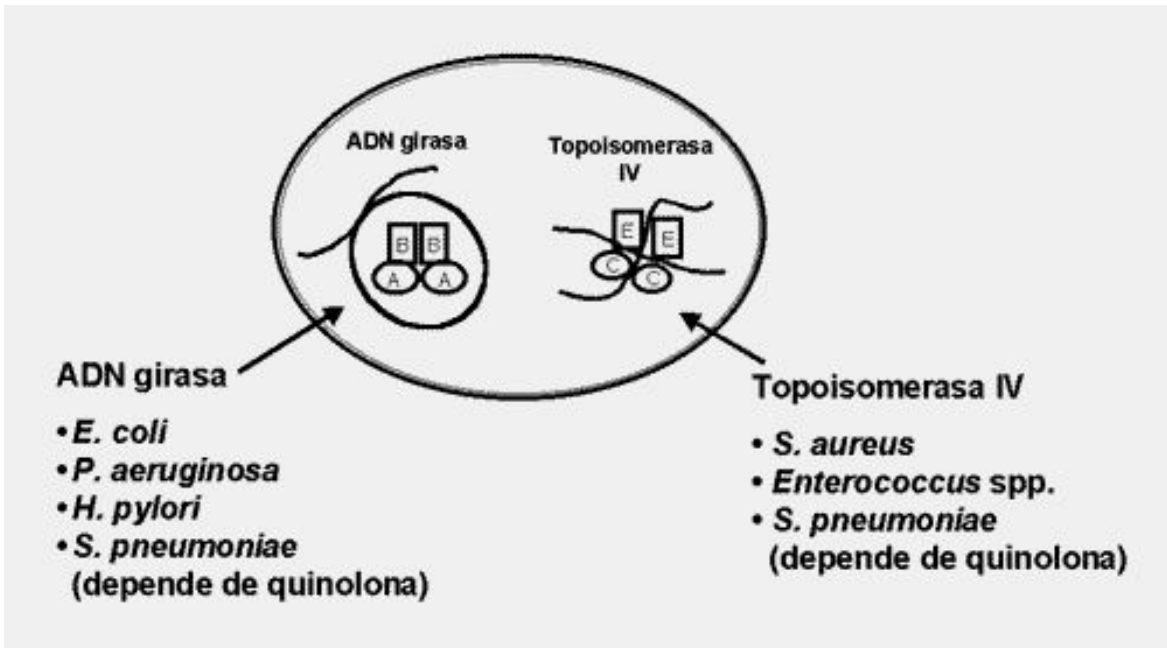
a)

MECANISMO DE ACCION DE LAS QUINOLONAS



med.javeriana.edu.co/.../imagen/estquin.gif

b)

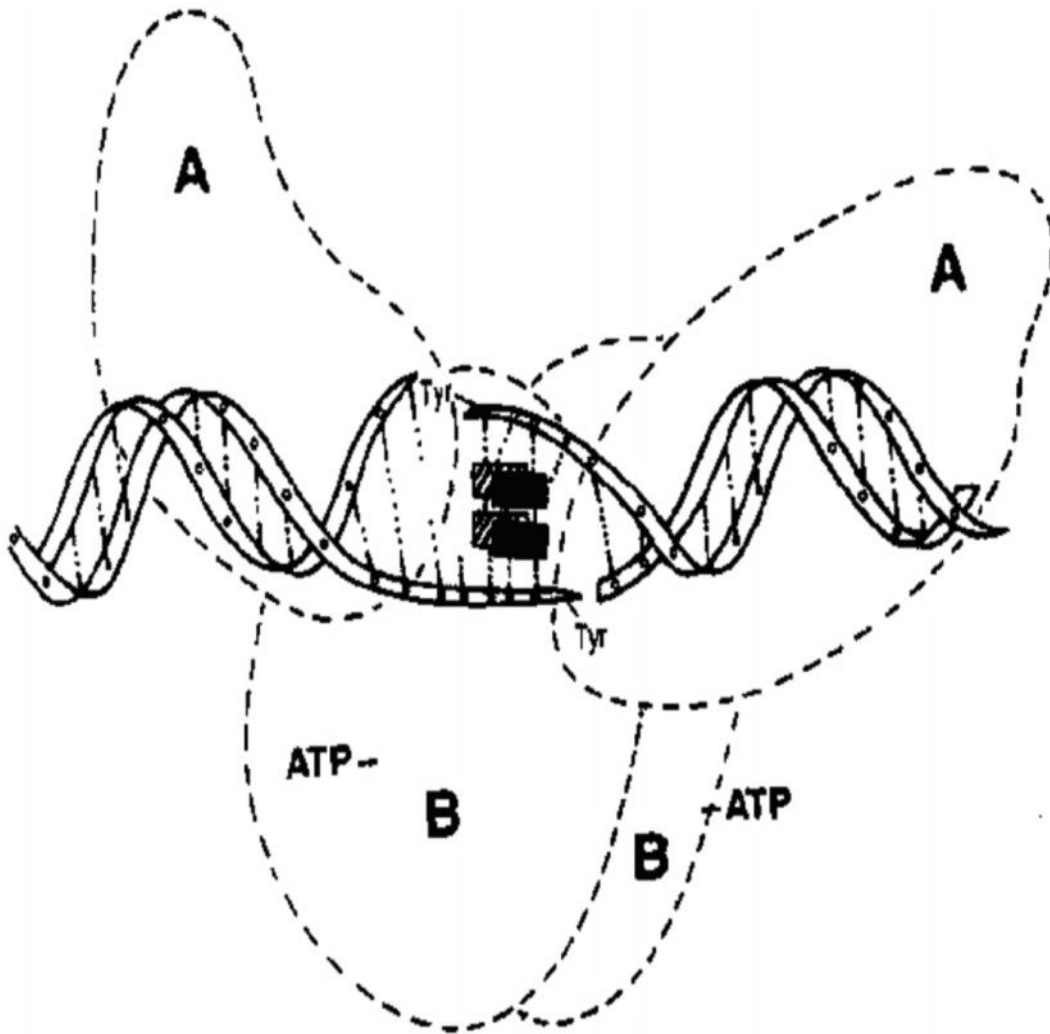


http://www.resist. quinolona.com/ar6/ar_advcdzgt-que-son-las-quinolonas.htm

ANEXO 5

a)

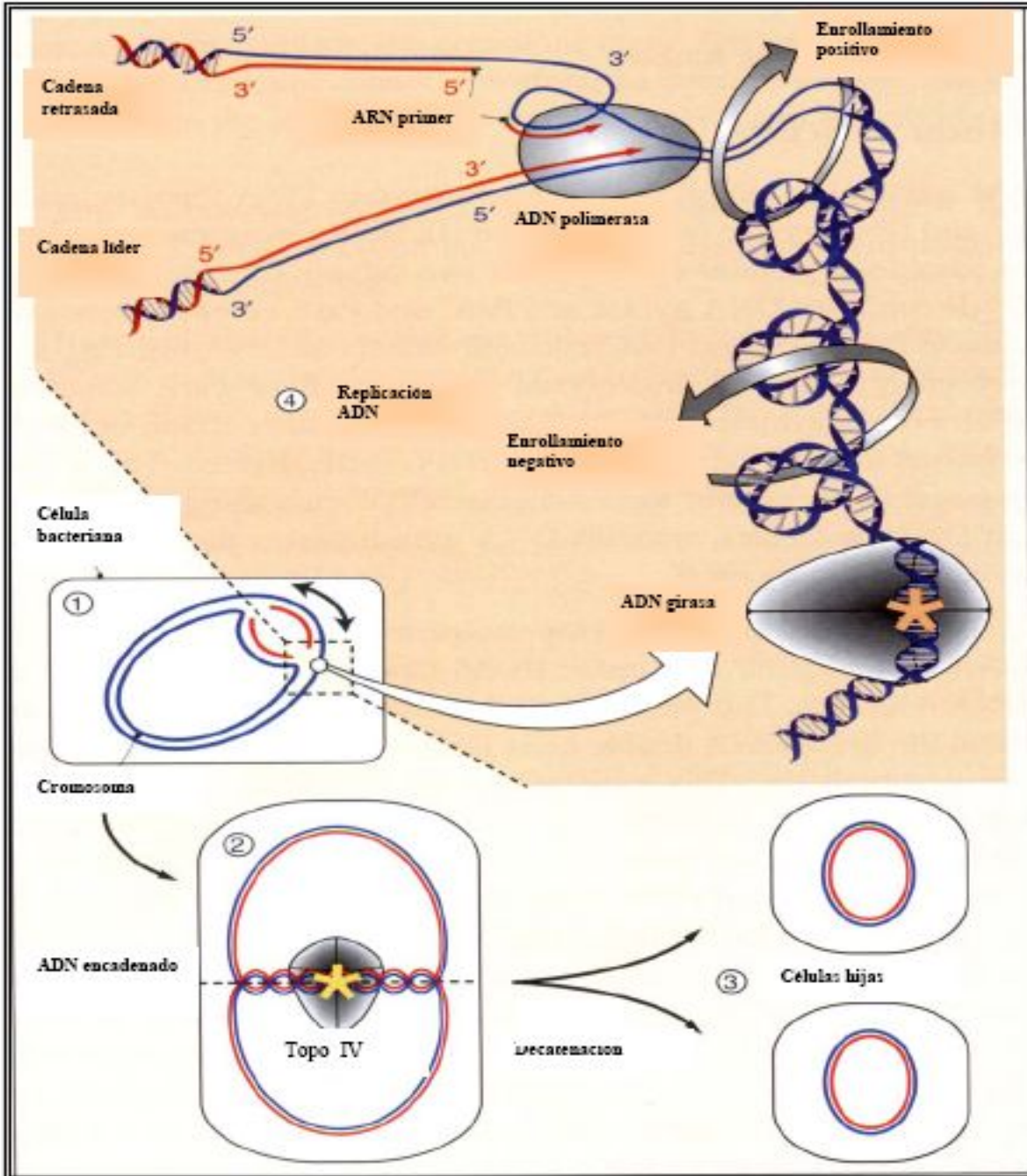
MECANISMOS DE RESISTENCIA A LAS QUINOLONAS



Fuente: DRS. MORENO S, LAZO D, PINOCHET R". Servicio de Urología".
Infecciones Intrahospitalarias**. Hospital Dr. Sótero del Río

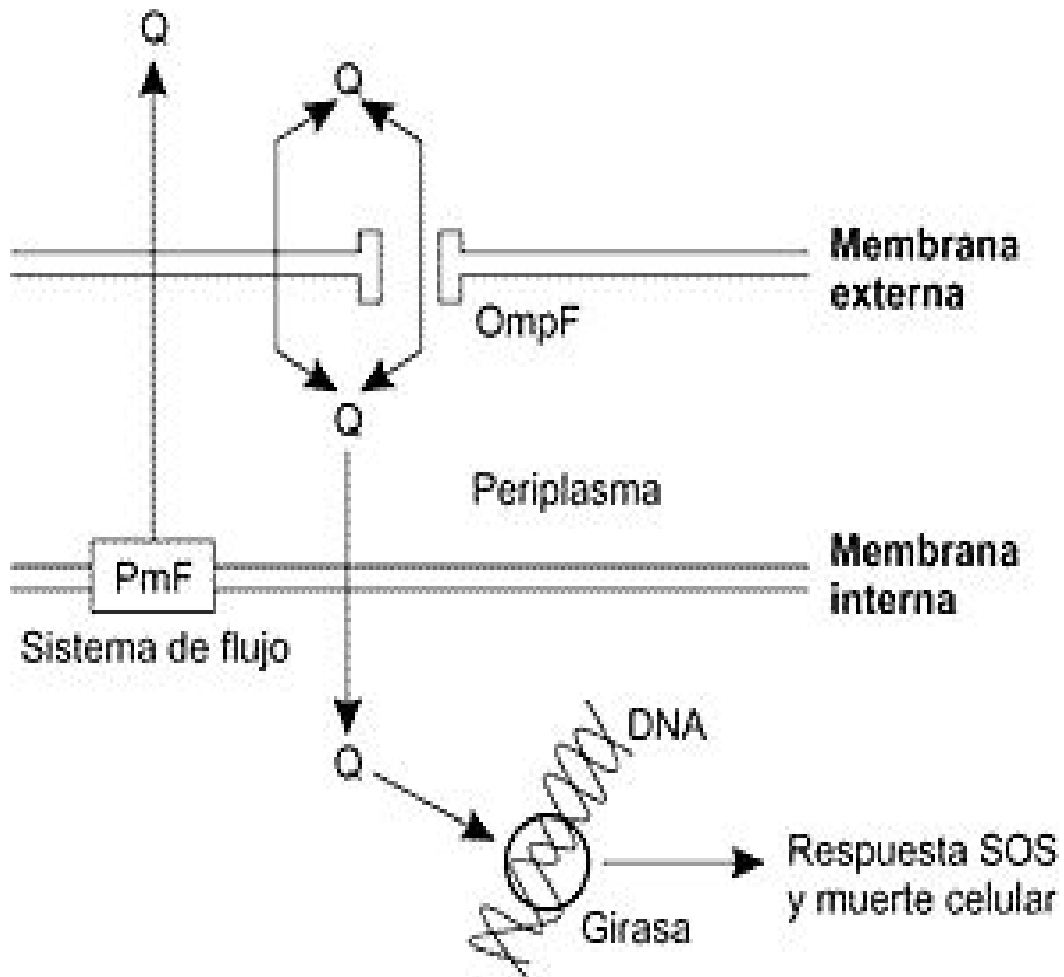
ANEXO 6

MECANISMO DE ACCION DE LA TOPOISOMERASAS



ANEXO 7

Mecanismos de Resistencia Bacteriana a las Quinolonas



Fuente: Niradiz Reyes, MSc, PhD Microbiología e Inmunología New York Medical College BACTERIOLOGIA MEDICA.

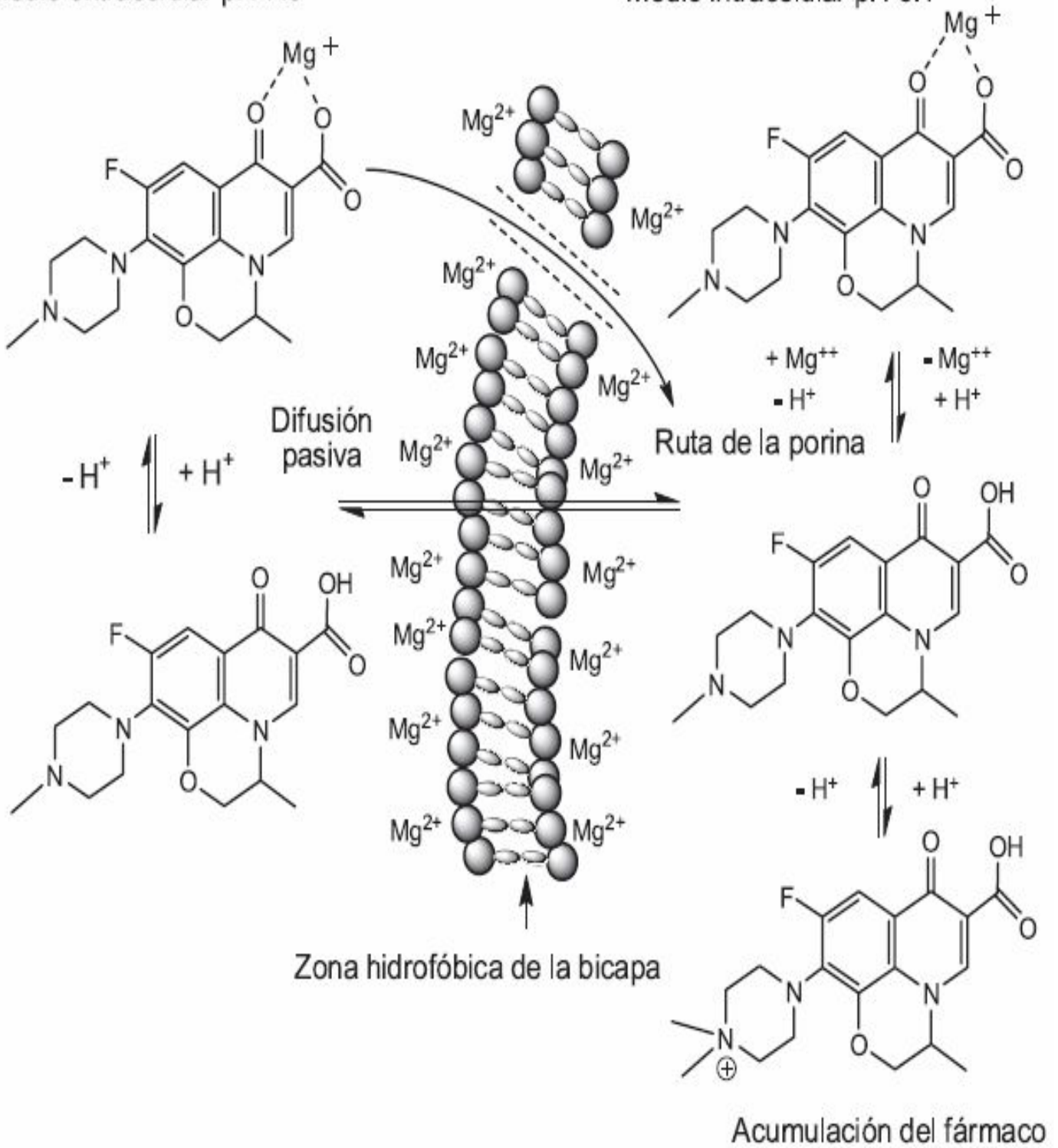
ANEXO 8

a)

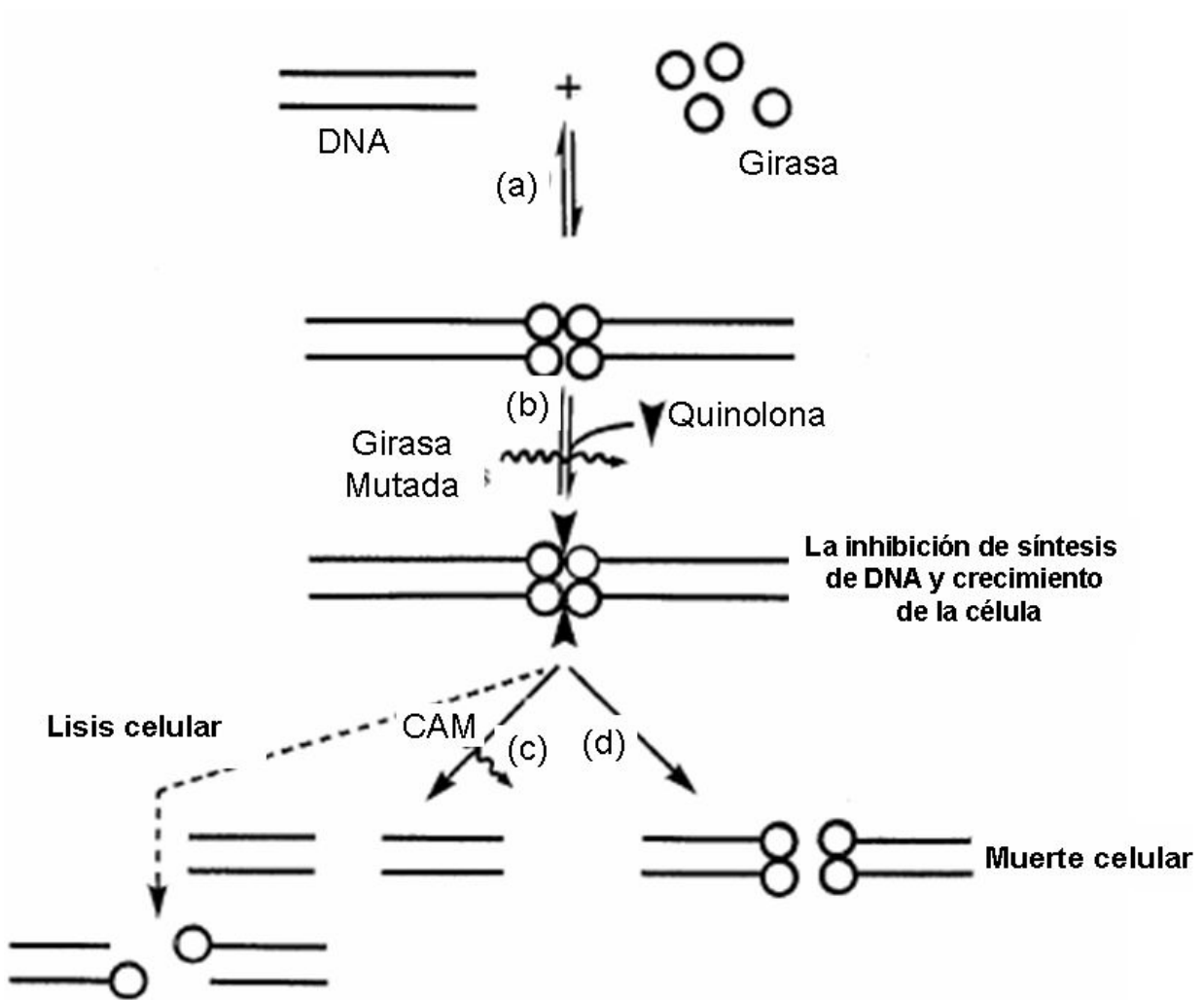
Esquematzación del mecanismo de entrada a las células de la ofloxacina

Medio extracelular pH 7.5

Medio intracelular pH 6.1



b)

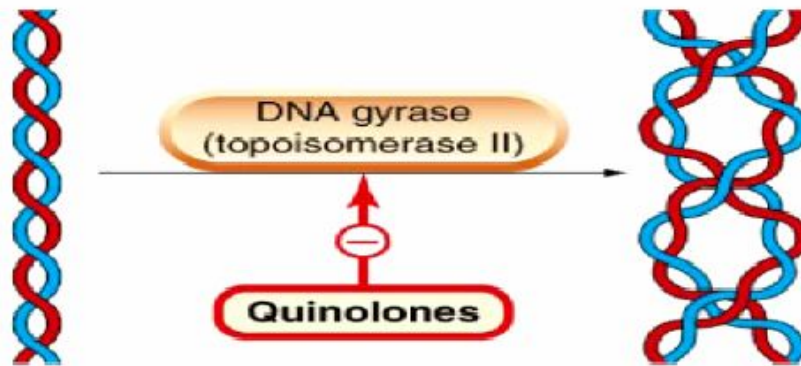
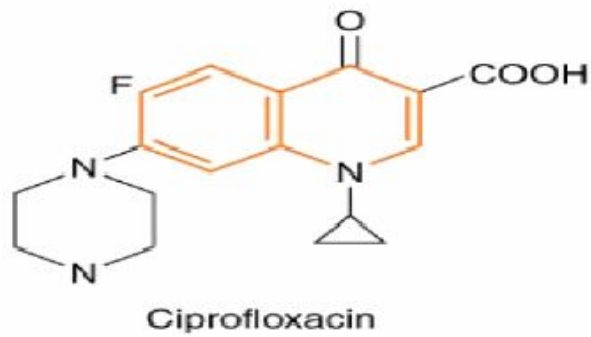


Fuente: DRS. MORENO S. Servicio de Urología*. Infecciones Intrahospitalarias
Hospital Dr. Sótero del Río

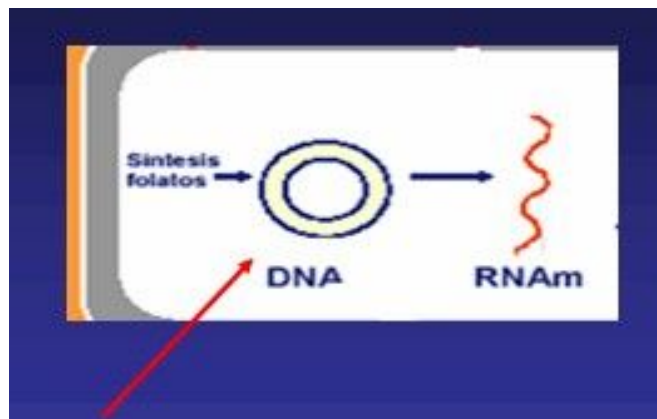
ANEXO 9

a)

Acción de la DNA girasa



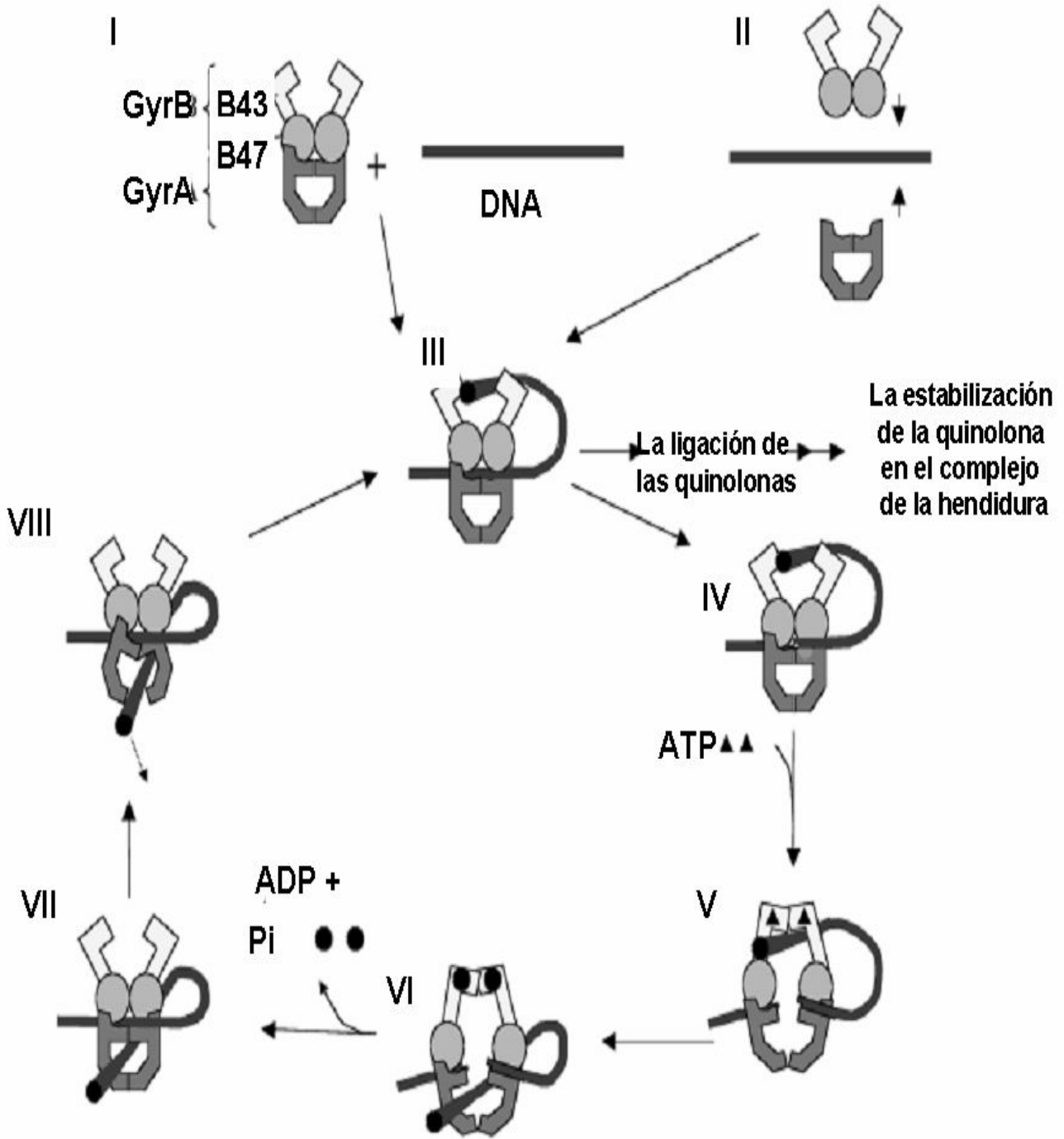
b)



www.accion/girasa/quinolona/htm

ANEXO 10

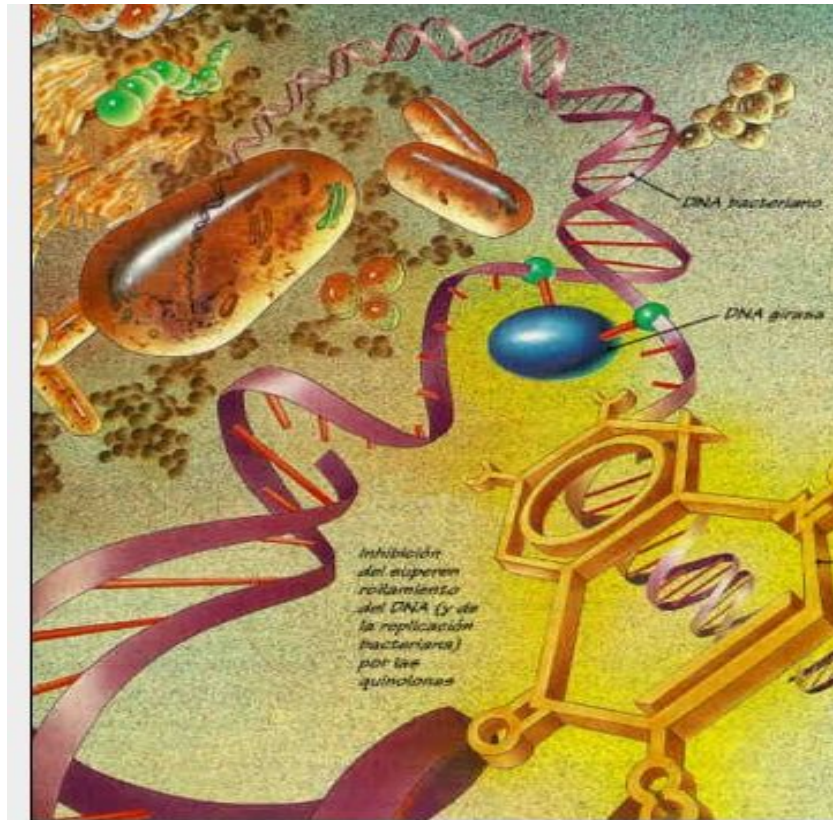
LA ACCION ENZIMATICA DE *Escherichia coli*





ANEXO 11

Acción de la Quinolonas



www.insc.es/salud/epidemiologia/resp/resist



ANEXO DE FOTOS



FOTO 1a: Muestra y orden medica



FOTO 1b: Muestra y identificación



FOTO 2: Siembra de la Muestra, en Agar sangre



FOTO 3: TINSION GRAM en placa



FOTO 4: Observación a microscopio y recuento en cámara de leucocitos mayor a 10 cpm.



FOTO 5: Observación de leucocitos y bacteria *Escherichia coli*

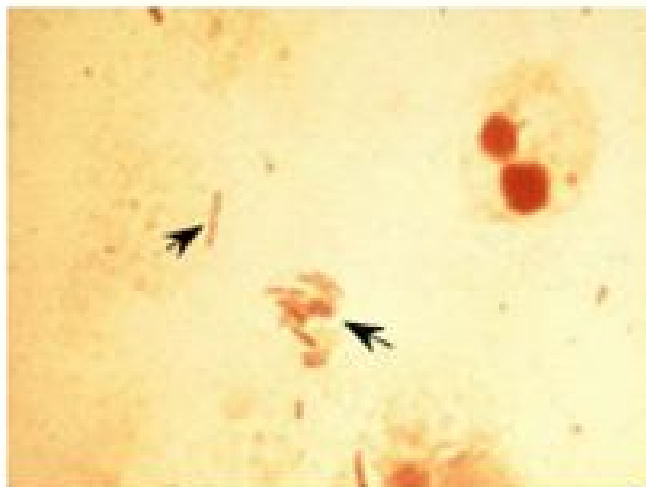


FOTO 6a: pruebas bioquímicas



FOTO 6b: pruebas bioquímicas



FOTO 7: Muestras en la estufa a 37°C (Atemperamiento)



FOTO 8: Estudio de la sensibilidad y resistencia (Antibiograma)

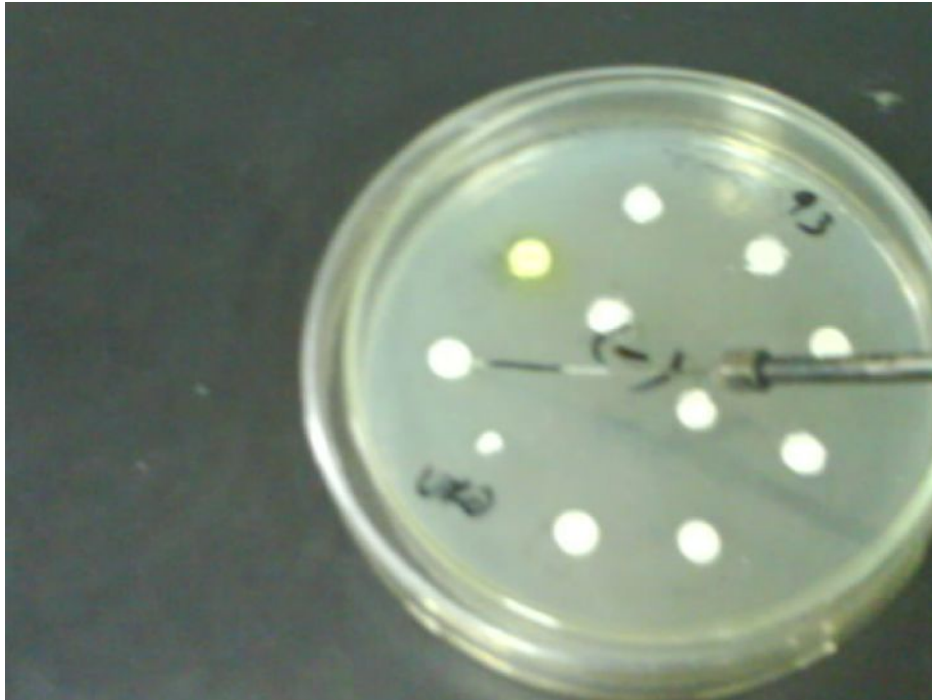


FOTO 9: Observación de resistencia al Acido Nalidixico y Ciprofloxacina

